

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos



## TESIS DOCTORAL

Estrategias de reformulación de productos cárnicos más saludables basadas en la incorporación de emulsiones gelificadas en frío estabilizadas con chía (*Salvia Hispanica*, L.) o avena (*Avena sativa*, L.)

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Tatiana Pintado del Campo

Directores

Ana M. Herrero Herranz  
Claudia Ruiz-Capillas Pérez  
Francisco Jiménez Colmenero

**Madrid, 2018**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**



**TESIS DOCTORAL**

**ESTRATEGIAS DE REFORMULACIÓN DE PRODUCTOS  
CÁRNICOS MÁS SALUDABLES BASADAS EN LA  
INCORPORACIÓN DE EMULSIONES GELIFICADAS EN FRÍO  
ESTABILIZADAS CON CHÍA (*Salvia hispanica*, L.) O AVENA  
(*Avena sativa*, L.)**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR:**

**Tatiana Pintado del Campo**

**DIRECTORES**

**Dra. Ana M. Herrero Herranz**

**Dra. Claudia Ruiz-Capillas Pérez**

**Dr. Francisco Jiménez Colmenero**

**MADRID, 2017**





Universidad Complutense de Madrid  
Facultad de Veterinaria  
Departamento de Nutrición,  
Bromatología y Tecnología de  
Alimentos



Instituto de Ciencia y Tecnología de  
Alimentos y Nutrición  
Departamento de Productos

**ESTRATEGIAS DE REFORMULACIÓN DE PRODUCTOS  
CÁRNICOS MÁS SALUDABLES BASADAS EN LA  
INCORPORACIÓN DE EMULSIONES GELIFICADAS EN FRÍO  
ESTABILIZADAS CON CHÍA (*Salvia hispanica*, L.) O AVENA  
(*Avena sativa*, L.)**

Memoria que presenta **Tatiana Pintado del Campo** para optar al grado de  
Doctor por la Universidad Complutense de Madrid.

Bajo la dirección de la Dra. Ana M. Herrero Herranz, la Dra. Claudia Ruiz-  
Capillas Pérez y el Dr. Francisco Jiménez Colmenero

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y NUTRICIÓN  
(ICTAN-CSIC)

**Madrid, 2017**



La Dra. Ana M. Herrero Herranz (Científico Titular), la Dra. Claudia Ruiz-Capillas (Investigador Científico) y el Dr. Francisco Jiménez Colmenero (Profesor de Investigación) del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición, (ICTAN-CSIC),

### CERTIFICAN:

Que la presente memoria titulada **“Estrategias de reformulación de productos cárnicos más saludables basadas en la incorporación de emulsiones gelificadas en frío estabilizadas con chía (*Salvia hispanica*, L.) o avena (*Avena sativa*, L.)”**, presentada por Tatiana Pintado del Campo para optar al grado de Doctor, ha sido realizada en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC) bajo su dirección, y que, hallándose concluida, autorizan su presentación para que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firman la presente certificación en

Madrid,

Dra. Ana M. Herrero

Dra. Claudia Ruiz-Capillas

Francisco Jiménez



La presente memoria ha sido realizada en el Departamento de Productos del Instituto de Ciencia y tecnología de Alimentos y Nutrición, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (ICTAN-CSIC).

El trabajo ha sido financiado por los siguientes proyectos de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I):

- Proyectos AGL2008-04892-C03-01, AGL2010-19515/ALI, AGL2011-29644-C02-01, AGL2014-53207-C2-1-R, MEDGAN S2013/AGR-2913, Intramurales CSIC 2014470E073 y 201470E056
- Proyecto Consolider Ingenio 2010: CARNISENUSA (CSD2007-00016)



**Unión Europea**  
Fondo Social Europeo



**CSIC**

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

**Consolider Ingenio  
2010  
Carnisenusa**





## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>13</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>19</b>
<b>1.1 ALIMENTACIÓN Y SALUD</b>	<b>19</b>
<b>1.1.1 Alimentos funcionales.</b>	<b>19</b>
<i>1.1.1.1 Antecedentes</i>	<b>19</b>
<i>1.1.1.2 Definición de alimento funcional</i>	<b>20</b>
<i>1.1.1.3 Actitud de los consumidores hacia los alimentos funcionales.</i>	<b>22</b>
<b>1.1.2 Declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos</b>	<b>22</b>
<b>1.2 CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS EN EL MARCO DE ALIMENTOS FUNCIONALES</b>	<b>25</b>
<b>1.2.1 Estrategias encaminadas al desarrollo de carne y productos cárnicos más saludables y funcionales</b>	<b>28</b>
<i>1.2.1.1 Reducir/eliminar componentes con implicaciones negativas para la salud</i>	<b>30</b>
<i>1.2.1.2 Aumentar/añadir componentes con implicaciones positivas para la salud</i>	<b>33</b>
<b>1.3 CONTENIDO LIPÍDICO EN PRODUCTOS CÁRNICOS</b>	<b>38</b>
<b>1.3.1 Implicaciones del consumo de grasa en la salud.</b>	<b>39</b>
<b>1.3.2 Reformulación de productos cárnicos en relación a su contenido lipídico</b>	<b>41</b>
<b>1.3.3 Reducción de la cantidad de grasa animal</b>	<b>42</b>
<b>1.3.4 Mejora del perfil lipídico.</b>	<b>43</b>
<i>1.3.4.1 Opciones tecnológicas emergentes para la estabilización y estructuración de aceites.</i>	<b>47</b>

<b>1.3.5 Emulsiones hidrogelificadas</b>	<b>53</b>
1.3.5.1 <i>Ingredientes vegetales: chía y avena</i>	<b>57</b>
1.3.5.2 <i>Procesos de gelificación alternativos: gelificación en frío</i>	<b>73</b>
1.3.5.3 <i>Aplicación de emulsiones gelificadas en el desarrollo de productos cárnicos.</i>	<b>78</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>83</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>87</b>
<b>3.1 EMULSIONES O/W: NO GELIFICADAS (CONVENCIONALES) Y GELIFICADAS (EG)</b>	<b>88</b>
<b>3.1.1 Materias primas</b>	<b>88</b>
<b>3.1.2 Desarrollo experimental</b>	<b>89</b>
3.1.2.1 <i>Formulación de emulsiones convencionales y EG</i>	<b>89</b>
3.1.2.2 <i>Elaboración de emulsiones convencionales y EG</i>	<b>91</b>
<b>3.2 PRODUCTOS CÁRNICOS</b>	<b>91</b>
<b>3.2.1 Materias primas</b>	<b>91</b>
<b>3.2.2 Diseño experimental</b>	<b>92</b>
3.2.2.1 <i>Formulación de salchichas tipo frankfurt</i>	<b>92</b>
3.2.2.2 <i>Formulación de salchichas tipo longaniza</i>	<b>93</b>
3.2.2.3 <i>Elaboración de productos cárnicos</i>	<b>93</b>
<b>3.3 CARACTERIZACIÓN Y ESTABILIDAD DE EMULSIONES Y PRODUCTOS CÁRNICOS</b>	<b>94</b>
<b>3.3.1 Aspectos nutricionales</b>	<b>94</b>
3.3.1.1 <i>Componentes mayoritarios</i>	<b>94</b>
3.3.1.2 <i>Valor energético</i>	<b>95</b>
3.3.1.3 <i>Perfil de ácidos grasos</i>	<b>95</b>
3.3.1.4 <i>Aminoácidos</i>	<b>95</b>
3.3.1.5 <i>Minerales</i>	<b>96</b>

<b>3.3.2 Aspectos tecnológicos</b>	<b>96</b>
3.3.2.1 <i>Propiedades ligantes de agua y grasa</i>	<b>96</b>
3.3.2.2 <i>pH</i>	<b>97</b>
3.3.2.3 <i>Medida objetiva del color</i>	<b>97</b>
3.3.2.4 <i>Oxidación lipídica</i>	<b>97</b>
3.3.2.5 <i>Parámetros texturales</i>	<b>97</b>
<b>3.3.3 Características estructurales</b>	<b>98</b>
3.3.3.1 <i>Espectroscopía ATR-FTIR</i>	<b>98</b>
<b>3.3.4 Microestructura</b>	<b>99</b>
<b>3.3.5 Análisis microbiológico</b>	<b>99</b>
<b>3.3.6 Análisis sensorial</b>	<b>99</b>
<b>3.3.7 Análisis estadístico</b>	<b>100</b>
<b>4. TRABAJO EXPERIMENTAL</b>	<b>103</b>
<b>4.1 INFLUENCE OF EMULSIFIED OLIVE OIL STABILIZING SYSTEM USED FOR PORK BACKFAT REPLACEMENT IN FRANKFURTERS</b>	<b>105</b>
<b>4.2 OIL-IN-WATER EMULSION GELS STABILIZED WITH CHIA (<i>Salvia hispanica</i> L.) AND COLD GELLING AGENTS: TECHNOLOGICAL AND INFRARED SPECTROSCOPIC CHARACTERIZATION</b>	<b>117</b>
<b>4.3 EMULSION GELS AS POTENTIAL FAT REPLACERS DELIVERING B-GLUCAN AND HEALTHY LIPID CONTENT FOR FOOD APPLICATIONS</b>	<b>129</b>
<b>4.4 EFFECTS OF EMULSION GELS CONTAINING BIOACTIVE COMPOUNDS ON SENSORIAL, TECHNOLOGICAL, AND STRUCTURAL PROPERTIES OF FRANKFURTERS</b>	<b>143</b>
<b>4.5 STRATEGIES FOR INCORPORATION OF CHIA (<i>Salvia hispanica</i> L.) IN FRANKFURTERS AS HEALTH-PROMOTING INGREDIENT</b>	<b>159</b>
<b>4.6 CHIA AND OAT EMULSION GELS AS NEW FAT REPLACERS AND HEALTHY BIOACTIVE SOURCES IN FRESH SAUSAGE FORMULATION</b>	<b>171</b>

<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN INTEGRADORA</b>	<b>207</b>
<b>5.1</b>	<b>EMULSIONES GELIFICADAS</b>	<b>208</b>
5.1.1	Consideraciones sobre su formulación y desarrollo	208
5.1.2	Aspectos nutricionales.	212
5.1.3	Aspectos tecnológicos	215
<b>5.2</b>	<b>DESARROLLO DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS</b>	<b>223</b>
5.2.1	Consideraciones sobre la formulación	223
5.2.2	Aspectos nutricionales	225
5.2.3	Aspectos tecnológicos, microbiológicos y sensoriales	232
5.2.3.1	<i>Salchichas tipo frankfurt</i>	232
5.2.3.2	<i>Salchichas tipo longaniza</i>	240
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>247</b>
	<b>REFERENCIAS</b>	<b>251</b>

## RESUMEN



## **RESUMEN**

Los lípidos son uno de los constituyentes de los alimentos a los que mayor atención se ha prestado en los últimos tiempos por su asociación con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles, primera causa de mortalidad a nivel mundial. Dado que la carne y sus derivados son una de las principales fuentes de ingesta de grasa, desde distintos ámbitos incluyendo la industria cárnica, se han realizado numerosos esfuerzos a fin de modificar su contenido. Una de las estrategias más novedosas, que se está ensayando con tal propósito, es la incorporación de emulsiones estructuradas (gelificadas) elaboradas con un perfil de ácidos grasos saludable y naturaleza sólida con características similares a las de la grasa animal. Además, en la elaboración de emulsiones gelificadas (EG) se pueden emplear determinados ingredientes vegetales que, además de mejorar algunos de sus aspectos tecnológicos (capacidad emulsionante, gelificante, etc.), contengan compuestos que presenten actividad biológica beneficiosa para la salud (fibra, minerales, ácidos grasos insaturados, etc.), como es el caso de la chía y avena.

En base a estas consideraciones el objetivo de esta memoria ha consistido en el **diseño y desarrollo de nuevas estrategias de reformulación basadas en la sustitución de la grasa animal por emulsiones estructuradas (gelificadas) como vehículo de diversos compuestos con implicaciones beneficiosas para la salud, para su aplicación en la preparación de productos cárnicos** (salchichas tipo frankfurt y longaniza) **más saludables y funcionales.**

En primer lugar se abordó la obtención de EG con diferentes concentraciones (5 – 26 %) y tipo de fuentes proteicas empleadas como agentes emulsionantes (aislado de proteína de soja, caseinato sódico, extracto de proteína cárnica, harina o semilla de chía y salvado de avena), y varios tipos de gelificantes en frío [transglutaminasa microbiana (MTG), alginato y gelatina] como agentes de estabilización de diversas concentraciones de aceite de oliva (5 – 52 %). En una segunda fase, se seleccionaron algunas de estas EG que por su composición y comportamiento tecnológico apropiado fueron empleadas en la formulación de derivados cárnicos con características diferentes. En tal sentido, la mejora del contenido lipídico y la presencia de compuestos saludables permiten dotar a las salchichas tipo frankfurt (producto cocido) y salchichas tipo longaniza (producto fresco) de alegaciones nutricionales y de propiedades saludables. Asociados tanto al



desarrollo de EG como a su aplicación en productos cárnicos, en determinados casos, se realizaron estudios sobre los efectos de la conservación (refrigeración y congelación).

Los resultados obtenidos demuestran la viabilidad de nuevas fuentes proteicas como chía (semilla y harina) y avena (salvado) en combinación con agentes gelificantes en frío para la estabilización de distintas proporciones de aceite de oliva en forma de EG. Este tipo de ingredientes además de aportar un perfil de ácidos grasos con mayor proporción de monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGP) [ $\alpha$ -linolénico (ALA) especialmente en aquellas EG con chía] proporcionan otros componentes con implicaciones positivas en la salud como fibra insoluble y soluble ( $\beta$ -glucanos de la avena), minerales (Ca, Mg, Mn, Zn, etc), etc. En relación con los aspectos tecnológicos, las EG en general presentan excelente capacidad para ligar agua y grasa. Los agentes gelificantes contribuyeron a la formación de estructuras más rígidas, si bien dicho efecto estuvo condicionado por la naturaleza del agente empleado. En tal sentido, se observó que las EG con alginato o gelatina presentaron una fracción lipídica con menor desorden y nivel de interacciones asociadas a un menor tamaño de gota de emulsión y mayor firmeza, comparadas con las elaboradas con MTG. La concentración de agente emulsionante también condicionó la textura de las EG ya que al aumentar la proporción de avena/aceite se produce una estructura más firme, asociada al incremento de la concentración "efectiva" de la proteína en la matriz. En todo caso, los materiales lipídicos obtenidos presentaron un adecuado comportamiento durante procesos de conservación en refrigeración (13 - 15 días) y congelación (15 días), ya que en general sus características apenas experimentaron cambios.

En relación a los derivados cárnicos formulados con EG como estrategia para sustituir grasa animal se consiguió una notable aproximación de su contenido lipídico a las recomendaciones de salud, centrada en la reducción del nivel de grasa y en la mejora de su perfil de ácidos grasos (aumento de AGM y AGP, principalmente de ALA en aquellos que contenían chía). Por otro lado, se incrementaron los niveles de fibra dietética, principalmente insoluble en aquellos que contenían chía, y soluble en los que contenían avena ( $\beta$ -glucanos), así como la presencia de determinados minerales (Ca, Mg, Mn, Zn, etc.). Estos cambios de composición permitieron dotar a los productos de distintas declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en el marco establecido por los Reglamentos (CE) n° 1924/2006 y 432/2012 del Parlamento Europeo. Por otro lado, el empleo de EG favoreció las propiedades ligantes de agua y grasa tanto en salchichas tipo frankfurt como en longaniza con reducido contenido de

grasa. En estos productos la incorporación de EG, en general provocó la formación de matrices cárnicas con estructuras más rígidas que las exhibidas por sus homólogos elaborados con grasa animal. Desde el punto de vista sensorial, todos los productos que contenían EG presentaron niveles apropiados de aceptación. Los atributos de calidad de los productos, en general, no estuvieron condicionados por efecto de la conservación en refrigeración, sin limitaciones adicionales en términos de vida útil propias de cualquier derivado cárnico de naturaleza análoga.

En consonancia con los resultados obtenidos, se puede concluir que el diseño estructural ensayado permite obtener materiales lipídicos con una composición y plasticidad apropiada para ser empleados como sustitutos de grasa animal en procesos de reformulación de derivados cárnicos más saludables. Independientemente del tipo de matriz cárnica estudiada, su utilización ha posibilitado la obtención de productos enriquecidos con diversos compuestos bioactivos, con propiedades tecnológicas y organolépticas adecuadas y seguros a lo largo de su vida útil.



## ABSTRACT



## **ABSTRACT**

Lipids, a food constituent, have been receiving a great deal of attention due to their association with the development of chronic non-communicable diseases, the leading cause of death worldwide. Since meat and meat products are one of the main sources of fat, great efforts have been made, including by the meat industry itself, to modify their content. One of the most novel strategies being tested in this regard is the incorporation of structured (gelled) emulsions made with a healthy fatty acid profile and a structure with solid-fat characteristics. Certain plant ingredients can be used in the manufacture of such gelled emulsions (EG) which, in addition to improving certain technological aspects (emulsifying capacity, gelling etc.), contain compounds which are biologically beneficial to health (fiber, minerals, unsaturated fatty acids, etc.). Such is the case of chia and oats.

Based on these considerations, the objective of this report is to design and develop new reformulation strategies based on the substitution of animal fat with structured (gelled) emulsions as way to deliver various compounds with beneficial health implications in the preparation of healthier meat products (frankfurters and longanizas).

First, the EG was obtained at several concentrations (5 – 26 %) and with different types of protein sources used as emulsifying agents (soy protein isolate, sodium caseinate, chia flour or seed and oat bran), and different cold gelling agents [microbial transglutaminase (MTG), alginate and gelatin] as stabilizers of various olive oil concentrations (5 – 52 %). The second stage entailed selecting EG based on their composition and appropriate technological performance for use in the formulation of meat products with different characteristics. By improving lipid content and adding healthy compounds, frankfurt-type sausages (cooked emulsion/gel product) and longaniza-type sausages (fresh product) can make nutritional and health claims. Linked to the development of EG and its use in meat products, studies on the effects of conservation (refrigeration and freezing) were conducted in some cases.

The results show that new protein sources such as chia (seed and flour) and oats (bran) in combination with cold gelling agents are able to stabilize different proportions of olive oil in EG form. These types of ingredients not only provide a higher proportion

of monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) [ $\alpha$ -linolenic acid (ALA), especially in EG containing chia], they also provide other health-related components such as insoluble and soluble fiber (oat  $\beta$ -glucans), minerals (Ca, Mg, Mn, Zn, etc.), etc. As for technological aspects, EG generally have very good water and fat binding properties. Gelling agents contributed to the formation of firmer structures, although this effect was dependent on the nature of the agent used. For example, EG with alginate or gelatin had a lipid fraction with a lower order and level of interaction associated with a smaller emulsion droplet size and greater firmness compared to those made with MTG. The concentration of emulsifying agent also affected the texture of the EG. An increase in the oat/oil ratio resulted in a firmer structure due to a higher 'effective' concentration of the protein in the matrix. In any case, the lipid materials obtained performed adequately, their characteristics hardly undergoing any change at all during chilled storage (13 - 15 days) and freezing (15 days).

In relation to meat products formulated with GE as a strategy to replace animal fat, lipid content was brought notably close to health recommendations and this was achieved by reducing fat and improving the fatty acid profile (increase in MUFA and PUFA, mainly ALA in those containing chia). Dietary fiber levels were also increased, mainly insoluble fiber in those containing chia, and soluble in those containing oats ( $\beta$ -glucans), as were certain minerals (Ca, Mg, Mn, Zn, etc.). These changes in composition made it possible for these products to make nutrition and health claims pursuant to Regulations (EC) No 1924/2006 and No 432/2012 of the European Parliament. Furthermore, the use of GE boosted the binding properties of water and fat in both Frankfurt-style and uncooked sausages with reduced fat content. In general, the incorporation of EG in these products led to the formation of meat matrices with firmer structures than those exhibited by their counterparts made with animal fat. From a sensory perspective, all products containing EG were generally considered to be acceptable. The quality attributes of the products in general were not affected by chilled storage, shelf life being similar to that of any comparable meat product.

Based on these results, it is safe to say that the structural design tested gives rise to lipid materials whose composition and plasticity makes them suitable to replace animal fat in reformulation processes leading to healthier meat products. Irrespective of the type of meat matrix studied, products have been obtained that are enriched with various

bioactive compounds and which have adequate and safe technological and organoleptic properties throughout their shelf life.





## **1. INTRODUCCIÓN**



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 ALIMENTACIÓN Y SALUD**

La alimentación es una necesidad primaria para el ser humano, sin embargo el papel que los alimentos han jugado dentro de la dieta humana, así como en el proceso involuntario de nutrición y la acción consciente de alimentarse, ha ido variando a lo largo de la historia influenciada por cambios sociales, políticos y económicos (Arroyo, 2008; Espeitx, 1999).

La alimentación y posteriormente la nutrición son conceptos modernos y distintos, un individuo puede estar bien alimentado pero mal nutrido (Aguilera, et al., 2007). En los últimos años se han venido produciendo importantes cambios en las pautas de alimentación y los estilos de vida, con consecuencias muy claras en la salud y en el estado nutricional de las poblaciones. Así pues, las grandes patologías con altos índices de prevalencia y mortalidad [enfermedades cardiovasculares (ECV), algunos tipos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas, etc.] tienen un componente trascendental ligado a la alimentación-nutrición y a los diferentes modos de vida (tanto en países desarrollados como los de en vías de desarrollo).

Hoy en día el papel que tiene la alimentación para mejorar la calidad de vida es fundamental, de forma que alimentación y salud se han convertido en un binomio inseparable.

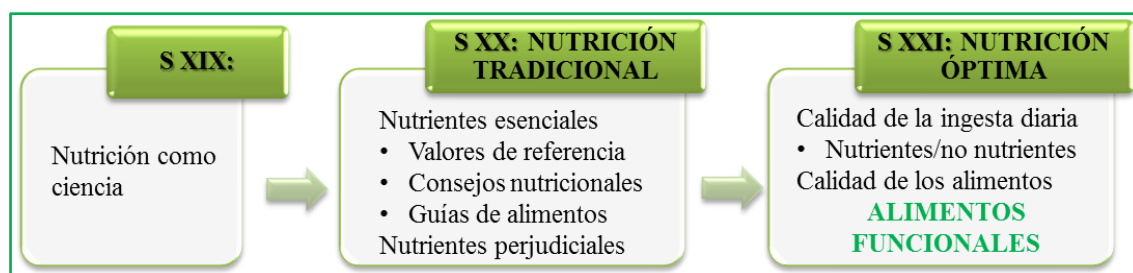
#### **1.1.1 Alimentos funcionales.**

##### *1.1.1.1 Antecedentes*

Con la frase “Que los alimentos sean tu medicina y los medicamentos tu alimento” se puede decir que Hipócrates, hace más de 2000 años, estaba dando comienzo a un nuevo concepto en el que se admitía una relación alimentos/nutrición y salud/enfermedad. Y fue a principios del siglo XX con la fabricación de la sal yodada cuando podría considerarse que se había preparado, mediante fortificación, el primer alimento con objeto de evitar la aparición de una enfermedad, el bocio (WHO, 2007).

La Ciencia de la Nutrición nació como tal en el siglo XIX (Figura 1.1), permitiendo establecer relaciones entre el estudio de los alimentos, la salud y la psicología del consumidor (Martirosyan y Singh, 2015). Los avances en esta ciencia

condujeron en el siglo XX a una nutrición tradicional en la que a partir de la identificación de una serie de nutrientes esenciales, se establecieran unas guías con el objeto de prevenir deficiencias y ayudar en el crecimiento, desarrollo y mantenimiento del organismo. Dichos progresos evolucionaron y hoy se reflejan en valores de referencia de nutrientes, consejos nutricionales y guías de alimentos (pirámides alimentarias o platos de comida) (ILSI, 2004; Roberfroid, 2000).



**Figura 1.1.** Evolución de la Ciencia de la Nutrición, adapta de ILSI (2004)

El salto al siglo XXI crea la necesidad de una nutrición óptima en la que se debe mejorar la calidad de la ingesta diaria en términos de nutrientes y no nutrientes, así como la de los alimentos con el fin de favorecer un buen estado de salud. Con el objetivo de optimizar las funciones fisiológicas de cada persona asegurando su máximo de bienestar, salud y calidad de vida, se crea la necesidad de lo que se entiende como “alimentos funcionales” (ILSI, 2004; Roberfroid, 2000).

#### 1.1.1.2 Definición de alimento funcional

Los alimentos funcionales nacieron en la década de los 80 (Japón). En 1991, el Ministerio de Salud y Bienestar de Japón, en un esfuerzo nacional por reducir el costo creciente de la atención sanitaria, estableció una categoría de alimentos denominados “alimentos de uso específico para la salud” (*Food for Specified Health Use*, FOSHU). De forma casi inmediata EEUU y Europa, entre otros, abrieron las puertas a este tipo de alimentos donde actualmente gozan de gran popularidad (Aguilera, et al., 2007).

La Unión Europea a través de una Comisión sobre Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa (*Functional Food Science in Europe*, FUFOSE) y con el apoyo del Instituto Internacional para las Ciencias de la Vida en Europa (*International Life Science Institute*, ILSI) elaboró un documento consenso donde establecieron las bases y conceptos necesarios para el desarrollo de este tipo de productos (Diplock, et al., 1999). Dicho documento señaló una definición operativa acerca de lo que es un alimento funcional. Según dicha definición se entiende por **alimento funcional** aquel que ha

**demostrado de manera satisfactoria, más allá de los efectos nutricionales habituales, que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones selectivas del organismo. De manera que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar y/o para la reducción de riesgo de enfermedad.** Es importante destacar que:

- Los alimentos funcionales ante todo son alimentos, y por ello no lo son pastillas, cápsulas, polvos, etc. No se deben confundir, por ejemplo, con los conocidos compuestos nutracéuticos, suplementos dietéticos, etc. que se presentan en una matriz no alimenticia.
- Pueden ser alimentos naturales o transformados ya que un alimento será funcional según el efecto que provoque en la salud sin tener en cuenta la procedencia del mismo.
- Han de consumirse como parte de un régimen normal, por lo que su efecto tiene que ser demostrado en las cantidades en que normalmente se consumen.
- El efecto funcional ha de estar sustentado en evidencias científicas sólidas basadas en estudios bien diseñados. Para tal fin, el ILSI Europa (2004) puso en marcha un Proceso para la Evaluación del Respaldo Científico de las Alegaciones sobre los Alimentos Funcionales (*Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods*, PASSCLAIM). En dicho documento se describen los principios básicos para la valoración del fundamento científico de las alegaciones (Aggett, et al., 2005).
- El efecto funcional no es general, no todos los integrantes de la población tienen que ser sensibles al efecto funcional. Establecer la ingesta de determinados componentes alimentarios seleccionados y las necesidades bioquímicas individuales podría convertirse en una tarea clave a medida que se avance en el conocimiento de las interacciones entre genes y alimentación (ILSI, 2004).

Existen otras definiciones de alimentos funcionales propuestas por diversas organizaciones nacionales y/o internacionales (Arihara, 2004; Martirosyan y Singh, 2015; SENC, 2003). A pesar de que todas ellas coinciden en muchos aspectos, sería interesante disponer de una definición universalmente aceptada que fortaleciera la comunicación entre científicos de la nutrición, consumidores y otros grupos así como legitimar la ciencia de los alimentos funcionales (Martirosyan y Singh, 2015).

*1.1.1.3 Actitud de los consumidores hacia los alimentos funcionales.*

El auge de los alimentos funcionales es una realidad que en España por ejemplo, crece a un ritmo del 14 % anual (FEN, 2013). Actualmente, en nuestro país se comercializan algo más de 200 tipos diferentes de alimentos basados en cambios de composición a fin de poder declarar propiedades nutricionales y/o propiedades saludables. El mercado de este tipo de alimentos está en alza y sus ventas hacen que en España se facturen 3.000 millones de euros al año, abriendo así prometedoras vías en el desarrollo de nuevos alimentos. Para ello, la industria alimentaria ha de tener en cuenta tanto las necesidades del consumidor en relación a su salud como la aceptación e imagen que se tiene de este tipo de alimentos. Sin embargo, un estudio publicado por el MAPAMA (2012), tan solo un 30 % de los encuestados conocía el término de “alimento funcional”. Aunque cuando se citaban ejemplos de alimentos funcionales o mejorados nutricionalmente, los encuestados admitían haber consumido alguno de ellos. Otros estudios avalan la confusión existente hacia este tipo de alimentos, que aunque están presentes en la mayoría de los hogares, sólo unos pocos son conscientes de ello o al menos tienen claro qué tipo de alimentos son (Annunziata y Vecchio, 2011; Carrillo, et al., 2013; Urala y Lahteenmaki, 2007). En todo caso, no todos los alimentos mejorados nutricionalmente pueden declarar propiedades saludables y por ende, no pueden ser considerados como funcionales.

Existen diversos factores que influyen en la percepción que el consumidor tiene de los alimentos funcionales, entre ellos caben destacar: estilo de vida, educación, nivel socioeconómico de los consumidores, etc. (Carrillo, et al., 2013; Urala y Lahteenmaki, 2007). Por ejemplo, en relación al sexo y la edad se ha observado que las mujeres parecen estar más interesadas en alimentos que favorezcan su estado de salud (Carrillo, et al., 2013; Urala y Lahteenmaki, 2007), y que la población más joven (18-24 años) está más familiarizada y dispuesta al consumo de nuevos alimentos (Carrillo, et al., 2013). La aparición de nuevos alimentos puede generar desconfianza e incluso rechazo, no obstante se ha demostrado cierta inclinación a su elección cuando el consumidor se ha familiarizado con los efectos beneficiosos que se les atribuyen (Carrillo, et al., 2013).

**1.1.2 Declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos**

La existencia de los alimentos funcionales crea la necesidad de establecer un marco legal a fin de clarificar los mensajes de este tipo de alimentos. Con el objetivo de

servir como referencia legal en la publicidad y el etiquetado de aquellos alimentos que además de nutrir, tienen un beneficio específico para la salud científicamente demostrado, la UE estableció el Reglamento (CE) nº 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos, encaminado a establecer una definición además de las reglas básicas para la creación y utilización de las mismas a nivel europeo (Comisión Europea, 2006). Por un lado una **declaración nutricional** se define como *“cualquier declaración que afirme, sugiera o dé a entender que un alimento posee propiedades nutricionales benéficas específicas con motivo de su aporte energético, los nutrientes y otras sustancias que: contiene, no contiene, o contiene en proporciones reducidas o incrementadas”*. Por otro lado, una **propiedad saludable** se definen como *“cualquier declaración que afirme, sugiera o dé a entender que existe una relación entre una categoría de alimentos, un alimento o uno de sus constituyentes, y la salud de los consumidores”* (Comisión Europea, 2006).

Desde que en 2006 se publicara este Reglamento (CE) 1924/2006, son varias las modificaciones que ha sufrido. Por ejemplo el artículo 7 de dicho Reglamento fue modificado por el Reglamento 1169/2011 que regula la información alimentaria facilitada al consumidor (Comisión Europea, 2011). En Enero de 2013 se amplió el artículo 10 mediante una nueva Decisión por la que se adoptaron directrices para la aplicación de las condiciones específicas relativas a las declaraciones de propiedades saludables establecidas en dicho artículo (Comisión Europea, 2013b). Además, el Anexo en el que se presenta la lista de propiedades nutricionales y las condiciones de aplicación fue modificado por los Reglamentos (UE) nº 116/2010 y 1047/2012 que hacen referencia a la cantidad y tipo de grasa y al contenido en sodio, respectivamente (Comisión Europea, 2011, 2012b).

Posteriormente la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (*European Food Safety Authority*, EFSA) se planteó, que en el caso de algunas propiedades saludables, cabía la posibilidad de establecerse una relación causa/efecto entre una categoría de alimentos, un alimento o uno de sus constituyentes y el efecto declarado. En este contexto se publicó el Reglamento UE nº 432/2012 por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños (Comisión Europea, 2012a). En dicho Reglamento se recogen más de 200 declaraciones que han sido ampliadas en sucesivas ocasiones mediante los Reglamentos (UE) nº



536/2013; n° 851/2013; n° 1018/2013; n° 40/2014; n° 2015/7; n° 2015/539; n° 2015/2314; n° 2016/854, n° 2016/1413, n° 2017/672 y n° 2017/676 (Comisión Europea, 2013c, d, e, 2014b, 2015a, b, c, 2016b, c, 2017a, b). Se trata por lo tanto de Reglamentos que están en continuo desarrollo.

Las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables han sido tema de debate en diversos ámbitos (personal científico, instituciones gubernamentales, consumidores, etc.) debido a los múltiples factores implicados. Su presencia en el etiquetado aumenta la probabilidad de que el alimento sea seleccionado por el consumidor y lo incluya en la cesta de la compra (Viana, et al., 2014; Wagner, et al., 2015). Sin embargo, la existencia de tales declaraciones puede dar una información nutricional parcial o equívoca del alimento que enmascare su calidad nutricional global, lo cual podría inducirle a una elección desacertada desde un punto de vista de la salud. Así por ejemplo, la selección de un alimento en el que se leyera una declaración tipo “fuente de calcio” pero con un 30 % de grasa (grasas saturadas en su mayoría) y un elevado nivel de sal (sodio) podría tener implicaciones negativas para determinados sectores de la población. Para mejorar este aspecto se ha tratado de establecer el “perfil nutricional” del alimento (Art. 4 del Reglamento (CE) n° 1924/2006) como elemento básico de información al consumidor que garantice su protección. La finalidad de tener un perfil de nutrientes es proporcionar una herramienta para clasificar los alimentos de acuerdo con su composición nutricional por razones relacionadas con la prevención de enfermedades y la promoción de la salud (aquellos que contienen una cantidad excesiva de azúcares libres, sal, total de grasas, grasas saturadas y ácidos grasos trans). Sin embargo, recientemente (12 de abril de 2016), el Parlamento Europeo aprobó una resolución (punto 47) (Comisión Europea, 2016a) que plantea la eliminación (si procede) de los perfiles nutricionales reglamentariamente previstos en la política alimentaria de la UE. Este punto insta a la Comisión que, en vista de los graves y persistentes problemas derivados de la aplicación del Reglamento (CE) n° 1924/2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos, en particular los problemas de distorsión de la competencia, revise el fundamento científico, la utilidad y el realismo de dicho Reglamento y, si procede, elimine el concepto de «perfil nutricional»; considera que los objetivos del Reglamento (CE) n° 1924/2006, como la veracidad de las declaraciones sobre alimentos y las indicaciones específicas relativas al contenido de grasa, azúcar y sal, han sido alcanzados, mediante

el Reglamento (UE) n° 1169/2011, que regula la información alimentaria facilitada al consumidor (Comisión Europea, 2006, 2011, 2016a).

## **1.2 CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS EN EL MARCO DE ALIMENTOS FUNCIONALES**

El elevado consumo de carne a nivel mundial y su previsible crecimiento puede dar una noción de lo importante que es este alimento. Actualmente el consumo medio es de 42,3 kg /año/persona (FAO, 2015). Su producción mundial se estima que aumente un 19 % (57,7 millones de toneladas) para el año 2023, de los cuales el 78 % (45,1 millones de toneladas) corresponderá a países en vías de desarrollo (OCDE-FAO, 2014). Según los últimos datos del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA), en los hogares españoles el consumo total de carne en 2016 fue de 50,1 kg per cápita pese a que se redujo un 1,5 % respecto a 2015. Además el gasto que los hogares españoles dedicaron en 2016 a productos cárnicos (20,9 % del presupuesto medio) fue el más elevado dentro de la compra de alimentos con 320,22 € per cápita (MAPAMA, 2016). Datos resultantes del estudio Brand FootPrint (KantarWorldPanel, 2016) revelaron que en 2015 empresas del sector cárnico, como El Pozo y Campofrío ocuparon el segundo y tercer puesto respectivamente en el ranking de marcas más consumidas en los supermercados y grandes superficies, y Argal, otra empresa cárnica, fue la marca que más creció con un incremento superior al 25 %. Estos datos ponen de manifiesto una vez más la importancia del sector cárnico a nivel nacional.

La composición de la carne varía en función de diversos factores (raza, edad, alimentación, etc.), pero en general constituye una valiosa fuente de nutrientes, muchos de ellos esenciales (Tabla 1.1) (Carbajal, 2005; Ferguson, 2010; Jiménez-Colmenero, 2001; Jiménez-Colmenero, et al., 2010b). La carne y sus derivados se caracterizan por ser una importante fuente proteica con un contenido aproximado del 10 - 35 % (Moreiras, et al., 2013), siendo la proteína de alto valor biológico ya que un 40 % de sus aminoácidos son esenciales (fenilalanina, isoleucina, histidina, arginina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina). Además, diversos estudios relacionan la ingesta de proteína cárnica con un control del peso corporal atribuido a su efecto saciante (Carbajal, 2005); por otro lado, mantener un peso óptimo ayuda a reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades como ECV, obesidad, diabetes, etc. (Layman, et

al., 2008; Paddon-Jones, et al., 2008). Las proteínas cárnicas también se relacionan con el mantenimiento del buen estado de la masa muscular, de los huesos, salud ocular y del corazón, etc. (Gaull, 1989; Higgs, 2000; McAfee, et al., 2010). Dipéptidos característicos de la carne como la carnosina y anserina, poseen propiedades antioxidantes además de estar implicados en procesos de cicatrización, anti-fatiga o anti-estrés (Arihara, 2006; Young, et al., 2013).

**Tabla 1.1.** Contribución (%) que aportan 100 g de diferentes tipos de carne (cerdo, ternera, cordero, pollo) con respecto a las recomendaciones diarias (hombres-mujeres, en edad adulta y con una actividad física moderada).

	<b>Cerdo</b>	<b>Ternera</b>	<b>Cordero</b>	<b>Pollo</b>
<b>Energía</b>	9,1-11,9	4,4-5,7	8,0-10,4	5,6-7,3
<b>Agua</b>	2,4-3,0	3,0-3,7	2,5-3,2	3,9-4,9
<b>Proteínas</b>	30,7-40,5	38,3-50,5	33,1-43,7	37,0-48,8
<b>Lípidos totales</b>	21,3-27,8	5,0-6,5	17,3-22,6	9,0-11,7
<b>AGS</b>	29,9-39,2	8,8-11,6	34,9-45,8	10,5-13,9
<b>AGI</b>	15,6-20,5	3,3-4,3	18,0-23,7	7,4-9,7
<b>Colesterol</b>	24,0-31,3	19,7-25,7	26,0-33,9	36,7-47,8
<b>Calcio</b>	0,8	0,8	0,8	1,3
<b>Hierro</b>	13,0-7,2	21,0-11,7	17,0-9,4	11,0-6,1
<b>Magnesio</b>	5,1-5,5	5,1-5,5	6,3-6,7	6,3-6,7
<b>Zinc</b>	12,0	25,3	18,7	6,7
<b>Sodio</b>	38,0	3,1	2,9	3,2
<b>Potasio</b>	10,6	10,0	8,9	7,1
<b>Fósforo</b>	24,3	24,3	27,1	28,3
<b>Selenio</b>	20,0-25,5	4,3-5,5	1,4-1,8	8,6-10,9
<b>Tiamina</b>	58,3-77,8	5,0-6,7	11,7-15,6	8,3-11,1
<b>Riboflavina</b>	11,1-14,3	12,2-15,7	12,8-16,4	8,3-10,7
<b>Vitamina B<sub>6</sub></b>	18,3-20,6	17,8-20,0	18,3-20,6	16,7-18,8
<b>Folatos</b>	1,0	2,0	2,8	2,5
<b>Vitamina B<sub>12</sub></b>	100	100	50	Tr

*Datos elaborados teniendo en cuenta la composición de la carne y las recomendaciones diarias establecidas (Moreiras, et al., 2013)*

Por otro lado cabe destacar el contenido lipídico de la carne (tanto a nivel cuantitativo como cualitativo) por su efecto positivo y negativo en la salud del consumidor, el cual depende en gran medida del tipo de animal (monogástricos o rumiantes principalmente) y del corte de procedencia. La presencia de ácidos grasos saturados (AGS) en rumiantes suele ser más elevada debido a que los AG insaturados (AGI) ingeridos sufren una biohidrogenación en el rumen. En porcino, aves, etc. esta composición variará en gran medida en función de la dieta del animal (Decker y Park, 2010). En la carne, en torno al 50 % de la grasa está formada por ácidos grasos

monoinsaturados (AGM) (oleico mayoritariamente) y poliinsaturados (AGP) (McAfee, et al., 2010). Además, la carne es una de las principales fuentes de ácido docosapentaenoico (DPA), ácido graso n-3 de cadena larga, cuyo consumo se cree que presente ventajas similares a las atribuidas al ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) (De Smet y Vossen, 2016). Por otro lado es interesante destacar la presencia de ácido linoleico conjugado (CLA) en niveles de 0,37 - 1,08 g/100 g en músculo de rumiantes (French, et al., 2000), entre otras por sus propiedades anticarcinogénicas y antiaterogénicas (Hargrave-Barnes, et al., 2008; Lock, et al., 2005; McAfee, et al., 2010; Young, et al., 2013). Sin embargo, la carne también contiene colesterol, que aunque es necesario para ciertas funciones del organismo (precursor de esteroides y de vitamina D, abastecer hormonas de las glándulas adrenales y sexuales, formación de ácidos biliares, etc.), su presencia en cantidades elevadas se relaciona con diversas patologías (ECV, algún tipo de cáncer, etc.) (McAfee, et al., 2010).

La carne también aporta a la dieta cantidades relevantes de vitaminas del complejo B, tales como tiamina, riboflavina, vitamina B6 y B12 (Tabla 1.1) (Decker y Park, 2010; McAfee, et al., 2010). Cabe destacar, de entre las importantes funciones de las vitaminas, las atribuidas a la B6 y B12 en relación con la incidencia de las ECV (McAfee, et al., 2010; Wagemakers, et al., 2009).

La presencia de minerales en la carne se encuentra principalmente de forma orgánica facilitando su absorción (De Smet y Vossen, 2016). De todos ellos, el hierro es el que cobra mayor importancia (cuantitativa y cualitativamente) por su alta biodisponibilidad (14 - 22 %) ya que el 50 - 60 % se encuentra en forma hemo. Resulta oportuno resaltar la presencia de este mineral si se tiene en cuenta que la Organización Mundial de la Salud (OMS/ WHO) considera la anemia ferropénica como uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial (WHO, 2011). Además, la carne y sus derivados son una de las principales fuentes de zinc con alta biodisponibilidad (20 - 40 %) (Higgs, 2000). Teniendo en cuenta que en España el consumo de zinc está por debajo de las ingestas recomendadas (FEN, 2012), se pone de manifiesto una vez más la importancia de incluir carne y sus derivados en nuestra dieta. Otros minerales presentes en la carne, con un aporte a la dieta en cantidades relevantes son el magnesio, selenio o fósforo (Tabla 1.1).

En la carne también están presentes otros elementos interesantes desde el punto de vista de la salud del consumidor como la creatina y sus derivados fosforilados (Comisión Europea, 2012a). Además, según la valoración de la dieta en España, la

carne y derivados cárnicos es fuente del 30 % del total de la energía consumida (FEN, 2012).

Pese a todas las ventajas derivadas del consumo de carne y productos cárnicos por el contenido de los compuestos ya descritos, estos alimentos también tienen algunas sustancias que en ciertas circunstancias y en cantidades inadecuadas se les atribuyen connotaciones negativas para la salud. Tales compuestos se pueden englobar en cuatro grupos: i) aquellos que se encuentran de forma natural en el animal (grasa, colesterol, etc.); ii) los añadidos durante el procesado de los productos cárnicos (sodio, fosfatos, sales nitrificantes, etc.); iii) asociados a los tratamientos tecnológicos de los mismos (contaminaciones microbianas, residuo de desinfectantes, etc.); iv) y componentes derivados de tratamientos térmicos o la conservación de los productos [hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), aminas heterocíclicas, productos de la oxidación lipídica, sustancias procedentes del embalaje, aminas biógenas, contaminaciones microbianas, etc.] (Jiménez-Colmenero, et al., 2001).

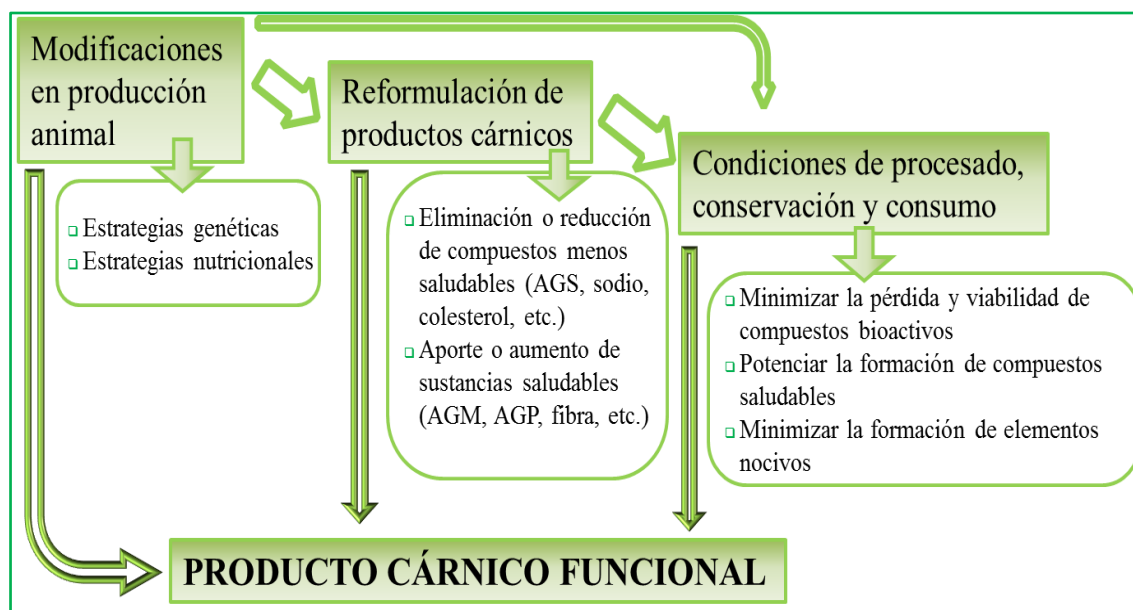
En este contexto habría que entender el papel del sector cárnico en el marco de la alimentación funcional. La industria cárnica, como consecuencia de continuas innovaciones tecnológicas y cambios en las demandas de los consumidores, al igual que otros sectores de la alimentación, está experimentando importantes transformaciones; entre ellas, las relacionadas con la búsqueda de estrategias centradas en conseguir una alimentación más “saludable” (Olmedilla-Alonso y Jiménez-Colmenero, 2014).

### **1.2.1 Estrategias encaminadas al desarrollo de carne y productos cárnicos más saludables y funcionales**

Los productos cárnicos constituyen un grupo de alimentos con un grado de aceptación elevado por parte de los consumidores. Si además se tiene en cuenta la gran variedad presente en el mercado y su notable aptitud para experimentar procesos de reformulación, entre los que se incluye la adición de diferentes ingredientes no cárnicos, se puede decir que tales alimentos son excepcionales para vehicular diversos compuestos bioactivos sin necesidad de modificar los hábitos de consumo (Olmedilla-Alonso y Jiménez-Colmenero, 2014).

En relación a lo descrito, la industria cárnica dispone de diferentes estrategias para optimizar la composición de los productos (Figura 1.2). Tales estrategias consisten en favorecer la presencia de elementos que potencialmente tengan un efecto positivo en la salud del consumidor y/o reducir/eliminar aquellos que tienen un efecto negativo.

Para tal fin, se puede trabajar básicamente en tres niveles (Figura 1.2): modificaciones en producción animal, reformulación de los productos cárnicos y condiciones de procesado, conservación y consumo (Olmedilla-Alonso, et al., 2013).



**Figura 1.2.** Estrategias y oportunidades para optimizar la presencia de compuestos bioactivos en carne y derivados en el marco de la alimentación funcional. Adaptada de Olmedilla-Alonso, et al. (2013).

El nivel de **producción animal** se presenta como la primera oportunidad para mejorar la presencia de componentes con efecto positivo en la salud, dado que la composición y calidad de la carne dependen de factores genéticos y asociados a la producción/nutrición animal (Jiménez-Colmenero, et al., 2010b; Lebret, 2008). La selección de razas y líneas genéticas o mediante procesos de transgénesis y clonación se puede modificar por ejemplo el contenido lipídico de la carne (reducción de la cantidad de grasa total y/o mejora del perfil de ácidos grasos de la grasa) (Jaturasitha, et al., 2016; Jiménez-Colmenero, et al., 2001; Lai, et al., 2006; Olmedilla-Alonso, et al., 2013; Saeki, et al., 2004; Zhou, et al., 2014). El empleo de dietas ricas en AGM o AGP, basadas en su presencia en productos vegetales (semillas con alto contenido de AGM y AGP) y marinos (pescado o algas), ha sido la práctica más ensayada en la mejora del perfil lipídico del músculo de las canales (porcino, vacuno, avícola, etc.) (Corino, et al., 2014; Habeanu, et al., 2014; He, et al., 2011; Jaworska, et al., 2016; Ludden, et al., 2009; Peiretti y Meineri, 2008; Realini, et al., 2017).

La **reformulación de productos cárnicos**, sin embargo es la estrategia más utilizada por las ventajas que aporta al incidir el cambio de composición directamente

en el desarrollo del producto final (Grasso, et al., 2014; Jiménez-Colmenero, 2007; Olmedilla-Alonso, et al., 2013). Muchas de las técnicas empleadas en la reformulación de derivados cárnicos serán descritas a lo largo de la presente introducción teniendo en cuenta además la naturaleza del compuesto objeto de estudio en el producto final (**Capítulos 1.2.1.1, 1.2.1.2 y 1.3**).

Por otro lado, alguna de las etapas que experimenta el alimento antes de ser consumido, **nivel de procesado y condiciones de conservación y consumo**, también pueden ser críticas en la pérdida y/o incremento de sustancias o en la formación de nuevos elementos que pueden aportar efectos deseables o por el contrario perjudiciales para la salud del consumidor. En tal sentido, cabe señalar la formación de nitrosaminas, HAP, aminos heterocíclicos, aminos biogénicos, etc., o la pérdida de compuestos beneficiosos como taurina, carnosina, coenzima Q10, creatina, entre otros (Jiménez-Colmenero, et al., 2017; Olmedilla-Alonso, et al., 2013).

Generalmente, el desarrollo de derivados cárnicos saludables implica abordar conjuntamente varios de los niveles descritos anteriormente (Jiménez-Colmenero, 2001, 2007). No obstante, la presente memoria se centra en estrategias basadas en la reformulación de productos cárnicos por las enormes posibilidades que ofrece para introducir cambios en diversos compuestos bioactivos de carácter endógeno y exógeno. Aunque muchas de las actuaciones que se describen a continuación, se producen simultáneamente, a efecto de la claridad de exposición su análisis se va a realizar de manera abreviada en dos secciones. Una de ellas se centrará en estrategias encaminadas a limitar la presencia de compuestos con efectos negativos y una segunda en aquellas otras basadas en potenciar la presencia de componentes beneficiosos para la salud. De forma específica, posteriormente, en el **capítulo 1.3** se detallarán algunas de las principales estrategias de reformulación relacionadas con el contenido lipídico (cantidad y perfil de ácidos grasos) de los productos cárnicos dada su relevancia en el marco del trabajo realizado en la presente tesis.

#### *1.2.1.1 Reducir/eliminar componentes con implicaciones negativas para la salud*

Dado que alguno de los componentes de la carne y/o sus derivados se han asociado con efectos negativos para la salud se ha considerado de interés reducir/eliminar su presencia. En tal sentido, principalmente se ha abordado la reducción de compuestos añadidos durante la elaboración de los productos (sodio,

fosfatos, sales nitrificantes) y otros generados durante el procesado y conservación de los mismos.

- *Sodio*

La carne es relativamente pobre en sodio (50 - 90 mg/100 g), sin embargo los productos cárnicos suelen presentar un elevado contenido (hasta 1500 mg/100 g) (Moreiras, et al., 2013). En la industria cárnica el NaCl se emplea como potenciador del sabor además de con fines tecnológicos y microbiológicos. Por ejemplo, ejerce un papel esencial en el desarrollo de la textura del producto ya que facilita la solubilización de las proteínas aumentando su capacidad de retención de agua, mejora la estabilización de emulsiones cárnicas, etc. (García, et al., 2001; Jiménez-Colmenero, et al., 2001). Pese a las ventajas tecnológicas que ofrece la sal, una elevada ingesta de sodio se ha relacionado con una posible subida de la presión sanguínea, factor de riesgo en el desarrollo de ECV, diabetes, obesidad, cáncer gástrico o enfermedades del riñón (Cocores y Gold, 2009; Desmond, 2006; MSPS/AESAN, 2010; Toldra y Reig, 2011; Tsugane, 2005). Tal es la envergadura del problema asociado al consumo de sodio, que diferentes instituciones [OMS, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Unión Europea (UE)] han elaborado programas enfocados a difundir la necesidad de una reducción del consumo de sal (2 g sodio/día que equivale a 5 g sal/día) (Domnariu, 2013; MSPS/AESAN, 2010; WHO, 2012). A nivel nacional, dentro de la estrategia NAOS, se estableció el programa “menos SAL es más SALud” (MSPS/AESAN, 2010).

En el sector cárnico se han planteado diversas estrategias para reducir el contenido de sodio en el producto final. La sustitución parcial del NaCl por otras sales (KCl, MgCl<sub>2</sub> o CaCl<sub>2</sub>) ha sido una de las vías más ensayadas, aunque su presencia puede dar lugar a sabores poco deseables en el producto (López-López, et al., 2009c; Mora-Gallego, et al., 2016; Ruusunen, et al., 2005; Triki, et al., 2013a). Debido a la importancia de la sal (NaCl) en el desarrollo del sabor se han puesto en marcha diversas iniciativas para minimizar el efecto de la reducción de sal en el mismo (enmascadores de sabores no deseables, intensificación de su solubilidad reduciendo su tamaño de partícula, etc.) (Fouladkhah, et al., 2015; Ojha, et al., 2016; Ruusunen y Puolanne, 2005).



- Fosfatos

Los fosfatos se emplean en los productos cárnicos por su contribución en el desarrollo del color, propiedades antimicrobianas, capacidad para reducir la pérdida de proteína soluble en los mismos, etc. (García, et al., 2001). Pese a las ventajas tecnológicas que presentan, los fosfatos se han relacionado también de forma negativa con la salud ya que dificultan la absorción del hierro, calcio o magnesio pudiendo derivar en problemas con el desarrollo/mantenimiento del buen estado óseo, además de ser potencialmente precursores de ciertos tipos de cáncer (Jin, et al., 2009; Shahidi y Synowiecki, 1997). En este sentido, se han estudiado procesos de sustitución de fosfatos basados en el empleo de oligofructosacáridos o mediante cambios en los procesos térmicos aplicados a los derivados cárnicos (Ando, et al., 2015; Resconi, et al., 2016).

- Sales nitrificantes

Las sales nitrificantes (nitritos y nitratos de sodio principalmente) se utilizan como aditivos (E250 y E251, respectivamente) en la elaboración de derivados cárnicos con varios fines: inhibir el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos, conferir y estabilizar el color en productos curados, ejercer una acción antioxidante y contribuir al desarrollo de su flavor típico. Sin embargo, su presencia en alimentos se ha relacionado con la formación de nitrosaminas (implicadas en actividades carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas). Por este motivo, el comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios ha establecido una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 0 - 0,7 mg/kg de peso corporal/día (expresado como ion nitrito) para el efecto de los nitritos y una IDA de 0 - 3,7 mg/kg de peso corporal/día (expresado como ion nitrato) en el caso de los nitratos (JECFA, 2002). Con el objetivo de evitar en la medida de lo posible la formación de los compuestos perjudiciales, se han llevado a cabo diversas estrategias basadas fundamentalmente en reducir/eliminar la presencia de sales nitrificantes en derivados cárnicos y/o adicionar inhibidores de la formación de nitrosaminas (Demeyer, et al., 2008; Ruiz-Capillas, et al., 2016; Weiss, et al., 2010; Wojciak, et al., 2014). Para tal fin se ha ensayado el empleo de diferentes extractos vegetales como el apio, vitaminas C y E por su acción antioxidante, así como por su capacidad para bloquear la formación de compuestos nitrificados y ácido ascórbico ya que es capaz de convertir el nitrito a óxido nítrico mejorando así el control de las etapas del procesado (Bartsch, et al., 1988; Mirvish, 1986; Toldrá, 2002).

- Otros compuestos

A lo largo de las distintas fases del procesado, conservación y consumo, los productos cárnicos experimentan importantes cambios, algunos de los cuales pueden conducir a la formación de compuestos no deseados como aminas biógenas, aminas heterocíclicas, HAP, etc., varios de ellos con propiedades mutagénicas, cancerígenas y citotóxicas. Por ejemplo, para evitar la presencia de HAP se recomiendan buenas prácticas de cocinado (bajas temperaturas), principalmente en productos con niveles de grasa elevados (Jiménez-Colmenero, et al., 2017; WHO, 2006).

Además se está tratando de reducir los niveles de gluten y lactosa en productos cárnicos por su implicación en las reacciones alérgicas o de intolerancia (Olmedilla-Alonso, et al., 2013).

#### *1.2.1.2 Aumentar/añadir componentes con implicaciones positivas para la salud*

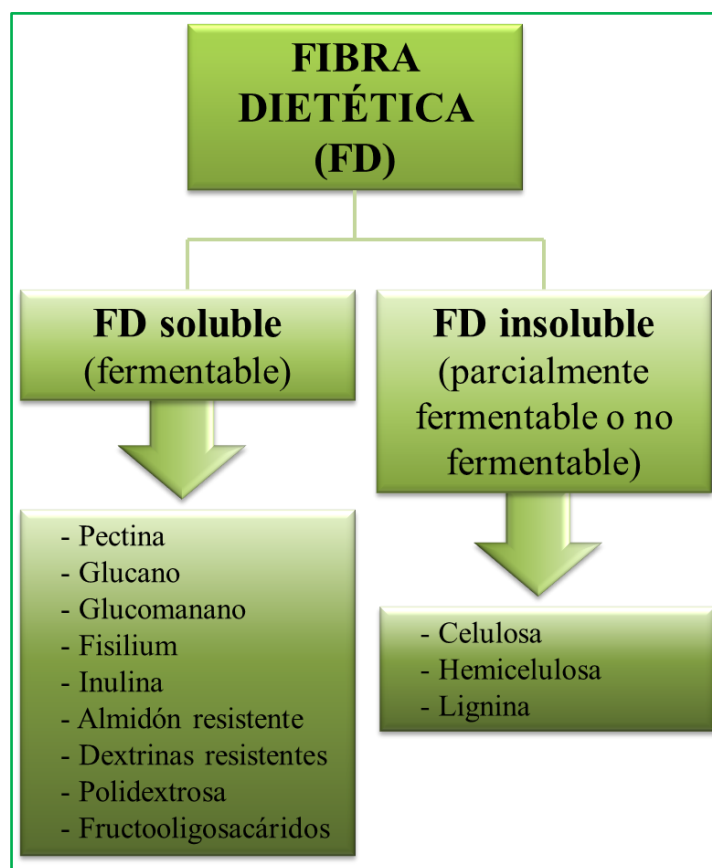
La adición de compuestos con efectos fisiológicos positivos confiere al alimento un carácter más saludable. Tales sustancias pueden adicionarse de manera directa o como componente de ingredientes. Aunque en ocasiones se puede plantear la incorporación simultánea de varios componentes bioactivos, en beneficio de la exposición, a continuación se van a describir de manera individual algunos de ellos.

- Fibra dietética

La fibra dietética está formada por polímeros de carbohidratos no amiláceos, principales componentes de las paredes de las células vegetales, y otros carbohidratos que resisten la hidrólisis por los enzimas digestivos humanos, pero que pueden ser fermentados por la microflora colónica y/o excretadas parcialmente por las heces (ILSI, 2006). Aquellos compuestos que forman la fibra dietética y consiguen llegar al colon donde se produce su fermentación tienen un efecto positivo en el consumidor, apareciendo así el término prebiótico (Praznik, 2015). Según el ILSI (2013), los prebióticos son ingredientes presentes en la dieta que al ser fermentados selectivamente afectan beneficiosamente al hospedador mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de uno o un número limitado de bacterias que forman la microbiota intestinal. En general, son muchas las ventajas para la salud del consumidor derivadas de una dieta rica en fibra.

La fibra dietética es considerada un elemento importante para una adecuada nutrición, además de ser uno de los componentes a través del cual se pueden realizar declaraciones nutricionales y de propiedades saludables (Comisión Europea, 2006, 2012a). A pesar de que los niveles de consumo recomendados oscilan entre 25 y 30 g/día dentro de una dieta equilibrada, la ingesta de fibra dietética en general se sitúa por debajo de las pautas señaladas (FEN, 2012; WHO/FAO, 2003). Así por ejemplo, en EEUU es de 13 - 15 g/día y en Europa, aunque es superior (18 - 22 g/día), no alcanza los niveles recomendados (FEN, 2012). En España, la ingesta de fibra dietética se estima alrededor de 19,7 g/día, a pesar de situarnos por debajo de los niveles recomendados, sí que se observa una ligera tendencia al alza (FEN, 2012).

Existen diversos criterios para clasificar la fibra dietética. Uno de los más utilizados atiende a su solubilidad (fibra insoluble y soluble), aunque también puede hacerse en base a su capacidad para ser fermentada (fermentable, parcialmente fermentable y no fermentable) (Figura 1.3).



**Figura 1.3.** Clasificación de la fibra dietética según Mehta, et al. (2015b)

Las ventajas derivadas de una dieta rica en fibra se manifiestan desde la masticación hasta la evacuación de heces. En los primeros tramos del aparato digestivo

por ejemplo, la ingesta de fibra soluble provoca mayor saciedad, disminución de la absorción de glucosa y lípidos, etc., pudiendo asociarse con reducciones de peso corporal (Escudero y González, 2006; Howarth, et al., 2001; Tucker y Thomas, 2009). Por otro lado, en el último tramo, y como resultado del metabolismo en condiciones anaerobias (fermentación) de la fibra dietética que llega inalterada al intestino grueso, se forman diversos metabolitos a los que se les atribuyen funciones relacionadas con el buen estado de la pared intestinal (absorción de minerales, reducción de infecciones intestinales y de metabolitos potencialmente carcinógenos, etc.) (Praznik, 2015; Slavin, 2013).

La reformulación de derivados cárnicos con fibra dietética ha sido una estrategia muy utilizada por sus ventajas tecnológicas (capacidad de retención de agua y grasa, mejoras en la textura, favorecer la estabilidad de sistemas gel/emulsión, etc.) y bajo poder calórico (2 kcal/100 g). En tal sentido, una de las principales aplicaciones ha sido su empleo como sustitutos de grasa animal, tanto en productos cocidos (Cofrades, et al., 2000; Luruena-Martínez, et al., 2004), como frescos (Anderson y Berry, 2001; Desmond, et al., 1998a; Salcedo-Sandoval, et al., 2015a; Serdaroglu, 2006) y fermentados (Koutsopoulos, et al., 2008; Triki, et al., 2013b).

La elección de una u otra fibra dependerá del tipo de alimento a desarrollar dado que condiciona su viabilidad, propiedades sensoriales, etc. (Jiménez-Colmenero y Delgado-Pando, 2013). Con tal propósito se han empleado diversas fuentes de fibra dietética procedentes de cereales (arroz, avena, trigo, etc.), frutas (naranja, limón, manzana, etc.), raíces (zanahoria, konjac, etc.), legumbres (guisante, soja, etc.), tubérculos (patatas), algas, etc. (Jiménez-Colmenero y Delgado-Pando, 2013; Mehta, et al., 2015a). Actualmente, por otro lado, nuevas fuentes de fibra están cobrando especial importancia, en especial aquellas que presentan ventajas en relación a la salud del consumidor, tales como fructooligosacáridos (inulina) o  $\beta$ -glucanos aislados de la avena o cebada (Alves dos Santos, et al., 2012; García, et al., 2006; Jiménez-Colmenero y Delgado-Pando, 2013; Keenan, et al., 2014; Öztürk y Serdaroglu, 2017; Ruiz-Capillas, et al., 2013; Salazar, et al., 2009; Selgas, et al., 2005). Este último ingrediente, junto con otros que despiertan especial interés en relación al presente trabajo, serán descritos de forma más exhaustiva en el **capítulo 1.3.5.1**.

Otros ingredientes con alto contenido en fibra dietética como algas, okara o nueces también se han empleado en el desarrollo de derivados cárnicos más saludables, aprovechando además, la presencia en su composición de otros elementos bioactivos

(Ayo, et al., 2007; Chang, et al., 2014; López-López, et al., 2009a; Woojoon, et al., 2016).

- Minerales

Los minerales son nutrientes esenciales que juegan un papel fundamental en la salud del consumidor (salud ósea, tensión arterial, función muscular y nerviosa y regulación de los niveles de glucosa en sangre, etc.) (Decker y Park, 2010).

Un alimento puede considerarse fuente de un mineral si contiene como mínimo una cantidad significativa del mismo tal como se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (Comisión Europea, 2008a), y alegar además las propiedades saludables atribuidas a dicho mineral. Entre los minerales más destacados en relación al número de alegaciones que se le han atribuido están el zinc, magnesio, calcio, hierro o manganeso (Comisión Europea, 2006, 2012a).

La carne y los productos cárnicos como se ha comentado anteriormente son ricos en minerales tales como el hierro, magnesio o zinc, pero son pobres en otros como el calcio o el manganeso. A fin de mejorar el contenido de minerales en los derivados cárnicos se han practicado diversas estrategias de fortificación tanto en relación con un elemento específico (Cáceres, et al., 2006; García-Iniguez de Ciriano, et al., 2010; Navas-Carretero, et al., 2009; Soto, et al., 2016; Soto, et al., 2015) como formando parte de ingredientes ricos en ellos (Zn, Mg, Mn, K, etc.) tales como nueces o algas (Ayo, et al., 2007; Cofrades, et al., 2011a; Cofrades, et al., 2011b).

- Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que cuando son administrados en una cantidad adecuada presentan un efecto beneficioso sobre la salud del consumidor (Ouweland, et al., 2002). Son capaces de sobrevivir al paso por el tracto gastrointestinal y se les han descrito propiedades anticancerígenas y antimutagénicas, capacidad para reducir el riesgo de padecer enfermedades gastrointestinales, mejorar el metabolismo de la lactosa, etc. (FAO/WHO, 2002; Jiménez-Colmenero, 2011).

Los principales microorganismos probióticos ensayados en productos cárnicos han sido *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Pasqualin Cavalheiro, et al., 2015). Tradicionalmente, su empleo ha estado focalizado en cárnicos fermentados dadas las óptimas condiciones que este tipo de productos presentan para su desarrollo (Abuissa,

2005; Rubio, et al., 2014; Ruiz, et al., 2014). Su aplicación en otro tipo de derivados cárnicos como los cocidos o frescos está más limitada por la necesidad de un tratamiento térmico para su procesado o consumo. En este contexto, la industria cárnica está buscando estrategias para la protección de estos microorganismos frente a condiciones adversas o que puedan limitar su viabilidad durante el procesado y conservación de los productos cárnicos (Anal y Stevens, 2005; Burgain, et al., 2011; Pasqualin Cavalheiro, et al., 2015). En tal sentido, algunos autores (Bomdespacho, et al., 2014; Pasqualin Cavalheiro, et al., 2015; Pérez-Chabela, et al., 2013) han ensayado la incorporación de microorganismos encapsulados (esferas de alginato) o microorganismos resistentes a tratamientos térmicos propios de productos cocidos.

En cualquier caso, estudios recientes han demostrado que incluso los probióticos inactivados pueden presentar efectos beneficiosos sobre el consumidor y por ello se han propuesto como alternativas útiles para casos específicos en los que puedan ser dañados por efecto de tratamientos térmicos, procesos de conservación etc. (de Almada, et al., 2016).

- Proteínas y péptidos

La carne es un alimento rico en proteínas, no obstante diferentes proteínas de origen no cárnico han sido empleadas en la reformulación de derivados cárnicos por sus ventajas tecnológicas y beneficios en la salud del consumidor (Jimenez-Colmenero, 2001). En este sentido una de las proteínas más estudiada ha sido la de soja, a la cual se le atribuyen interesantes propiedades ligantes de agua y grasa, capacidad emulsionante, etc. (Nishinari, et al., 2014), así como un papel preventivo y terapéutico con respecto a diversas enfermedades (ECV, algún tipo de cáncer, etc.) (Friedman y Brandon, 2001). Diversos productos FOSHU, entre ellos embutidos bajos en grasa, han utilizado proteína de soja como ingrediente funcional alegando que su consumo puede mantener un nivel aceptable de colesterol (Arihara, 2004). Aunque recientemente se está cuestionando su efecto en la salud del consumidor (D'Adamo y Sahin, 2014). Otras proteínas utilizadas también por la industria cárnica son las del lactosuero (ElMagoli, et al., 1996; Hughes, et al., 1998; Lyons, et al., 1999; Torgersen y Toledo, 1977), por su potencial actividad anticancerígena y poder antioxidante (McIntosh, et al., 1998; Pena-Ramos y Xiong, 2003; Shon y Chin, 2008).

Un aspecto interesante es la presencia de péptidos bioactivos, entre los cuales caben destacar los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina I

(Angiotensin I Converting Enzyme, ACE), carnosina ( $\beta$ -alanil-L-histidina) y anserina (N- $\beta$ -alanil-L-metil-histidina) por su relación con la reducción de problemas de hipertensión y su poder antioxidante (Arihara, 2006).

- *Vitaminas y otros compuestos*

La carne se caracteriza por ser una excelente fuente de vitaminas del grupo B pero deficiente en vitaminas A, C, D, E o K. En tal sentido se ha potenciado la presencia de alguna de éstas (vitaminas A, C y E) por su potencial antioxidante que además se relaciona con una reducción de la mortalidad provocada por ciertas ECV, algunos tipos de cáncer o Alzheimer (Jiménez-Colmenero, 2011). Además, un producto podría considerarse fuente de una vitamina si contiene como mínimo una cantidad significativa del mismo tal como se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (Comisión Europea, 2008a), y alegar además las propiedades saludables atribuidas a dicha vitamina (Comisión Europea, 2006, 2012a). Sin embargo, la adición de alguna de estas vitaminas directamente a la matriz cárnica puede originar problemas en su estabilidad debido a los procesos tecnológicos (su oxidación, pérdidas de las mismas durante el procesamiento del alimento, etc.) y por lo tanto su empleo en productos cárnicos va asociado al uso de precursores de las mismas o de ingredientes que las contengan como es el caso de cítricos (Decker y Park, 2010; Fernández-López, et al., 2004), piel o zumo de tomate (Calvo, et al., 2008; Csapo, 2006; Gámez, et al., 2014), espinacas (Schoenfeldt y Gibson, 2008), etc.

Los polifenoles son compuestos que presentan una acción antioxidante y antimicrobiana (Dua, et al., 2016). Por estas funciones se ha ensayado la incorporación en productos cárnicos de distintos vegetales ricos en polifenoles tales como algas, romero, té, orégano, melissa, clavo, perejil, vainilla, borraja, cardamomo, tara, etc. (García-Iniguez de Ciriano, et al., 2010; Haak, et al., 2009; Hygreeva, et al., 2014; Jarvis, et al., 2015; Kong, et al., 2010; Moroney, et al., 2015; Skowrya, et al., 2015).

### **1.3 CONTENIDO LIPÍDICO EN PRODUCTOS CÁRNICOS**

Los lípidos tienen una actividad primordial en el organismo ya que presentan funciones estructurales, actúan como vehículo y aporte de vitaminas liposolubles y son precursores de moléculas con actividad biológica. En tal sentido su presencia en la dieta es necesaria y además saludable en distintas proporciones. Por otro lado, la grasa es la

principal fuente de energía de la dieta y sus características tienen una profunda influencia sobre la salud de los consumidores, recibiendo así más atención que cualquier otro nutriente.

### **1.3.1 Implicaciones del consumo de grasa en la salud.**

Numerosos estudios han mostrado una asociación entre la ingesta de AGS y un aumento de las concentraciones de colesterol total (colesterol LDL y HDL) en sangre que se ha relacionado con el desarrollo de ECV, obesidad, hipertensión y algunos tipos de cáncer (McAfee, et al., 2010; Ros, et al., 2015; Sanchez-Muniz, et al., 2003; WHO, 2009). Aunque actualmente existen estudios que cuestionan este efecto de los AGS sobre la salud del consumidor (Siri-Tarino, et al., 2010). Por otro lado, también el consumo de ácidos grasos *trans* ha sido asociado con diversas patologías (FAO, 2012; Ros, et al., 2015).

El consumo de AGM, entre los que destaca el oleico por su alta prevalencia (países mediterráneos), ha sido relacionado con una reducción de colesterol LDL y triglicéridos en sangre. En este sentido existe una relación inversa entre la ingesta de AGM y el riesgo de enfermedades de tipo cardiovascular. Sin embargo, se han descrito resultados contradictorios en relación al papel de AGM sobre la sensibilidad a la insulina y el riesgo de diabetes, aunque en general se ha encontrado un efecto beneficioso cuando éstos sustituyen en la dieta a los AGS o hidratos de carbono (Ros, et al., 2015).

La ingesta de AGP n-6 supone una mejora en el control glucémico y reduce el riesgo de diabetes según varios estudios observacionales (Ros, et al., 2015). Por otro lado, estudios epidemiológicos muestran asociaciones entre la ingesta de estos ácidos grasos y la disminución del riesgo de desarrollar algún tipo de cáncer o enfermedades de tipo cardiovascular (Ros, et al., 2015).

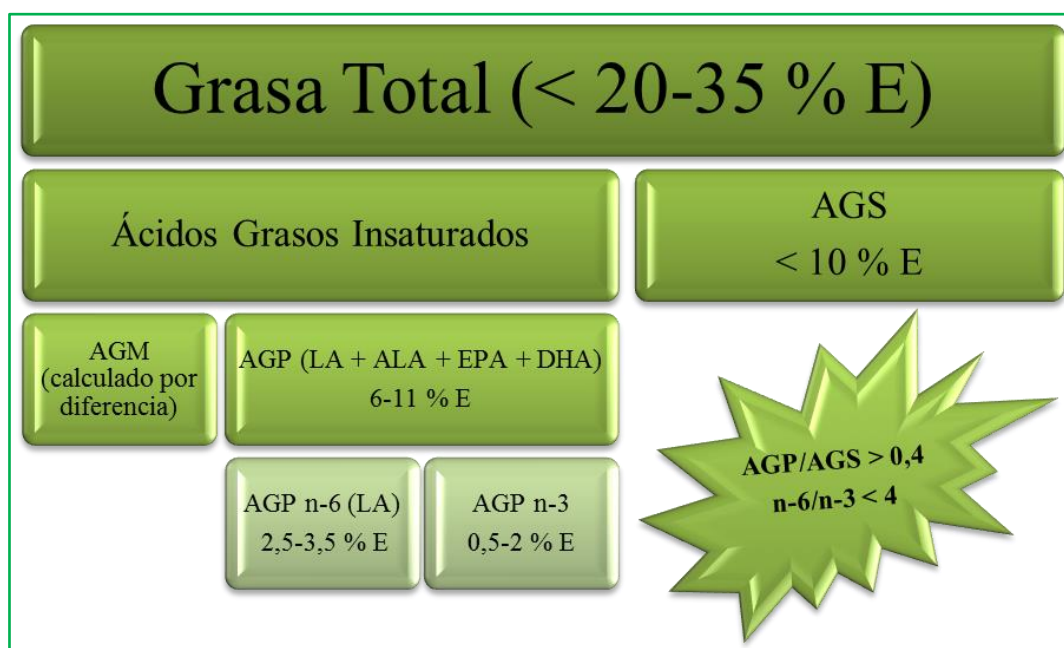
La presencia de AGP n-3 en nuestra dieta, según un elevado número de estudios epidemiológicos y clínicos, tiene un efecto protector frente a la mortalidad por ECV, algún tipo de cáncer, etc. Se han descrito también, de forma específica, efectos cardiovasculares beneficiosos asociados a la ingesta de ácido alfa-linolénico (ALA) (Ros, et al., 2015). Especial atención han recibido AGP n-3 de cadena larga, ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) por su relación beneficiosa con la salud coronaria, del cerebro y de la visión en el caso de niños (EFSA, 2010a; Meyer, 2011). En tal sentido, el aumento del consumo de AGP n-3 en la población puede



contribuir a reducir la incidencia de algunas de las enfermedades crónicas no transmisibles responsables de la mayor parte de la tasa mundial de morbilidad (Hibbeln, et al., 2006).

Teniendo en cuenta las implicaciones de la grasa en relación con la salud del consumidor, se han establecido unas recomendaciones dietéticas (Figura 1.4).

En líneas generales, se sugiere que el aporte energético procedente de la grasa, en personas de edad adulta, no supere el 20 - 35 % de la energía total (Figura 1.4). Por otro lado, se recomienda que estos niveles no se encuentren por debajo del 15 % para asegurar así un consumo adecuado de energía total, ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles. Dado que cada uno de los AGS presenta implicaciones diferentes sobre la salud, se aconseja que su aporte energético no supere el 10 % de la energía total de la dieta (Figura 1.4). El colesterol o los ácidos grasos *trans* no debieran superar 300 mg/día y el 1 % del total de energía, respectivamente (FAO, 2012; WHO/FAO, 2003).



**Figura 1.4.** Recomendaciones de aporte energético correspondiente a la ingesta de grasa y ácidos grasos en adultos y relación de AGP/AGS y n-6/n-3. Adaptada de FAO (2012). La energía total (E) (kcal/día) recomendada para hombres en edad adulta es de: 3000 (16-39 años), 2850 (40-49 años), 2700 (50-59 años) y 2400 (> 60 años). En mujeres las recomendaciones son: 2300 (16-39 años), 2185 (40-49 años), 2075 (50-59 años) y 1875 (> 60 años) (Moreiras, et al., 2013).

En relación a los AGM, el grupo de expertos de la FAO (2012) propone una ingesta calculada por diferencia entre las recomendaciones de grasa total y la suma de AGS y AGP, es decir, entre un 16 y un 19 % de la energía total indicada para adultos (FAO, 2012; Ros, et al., 2015). Para este grupo poblacional, en base a datos del estudio

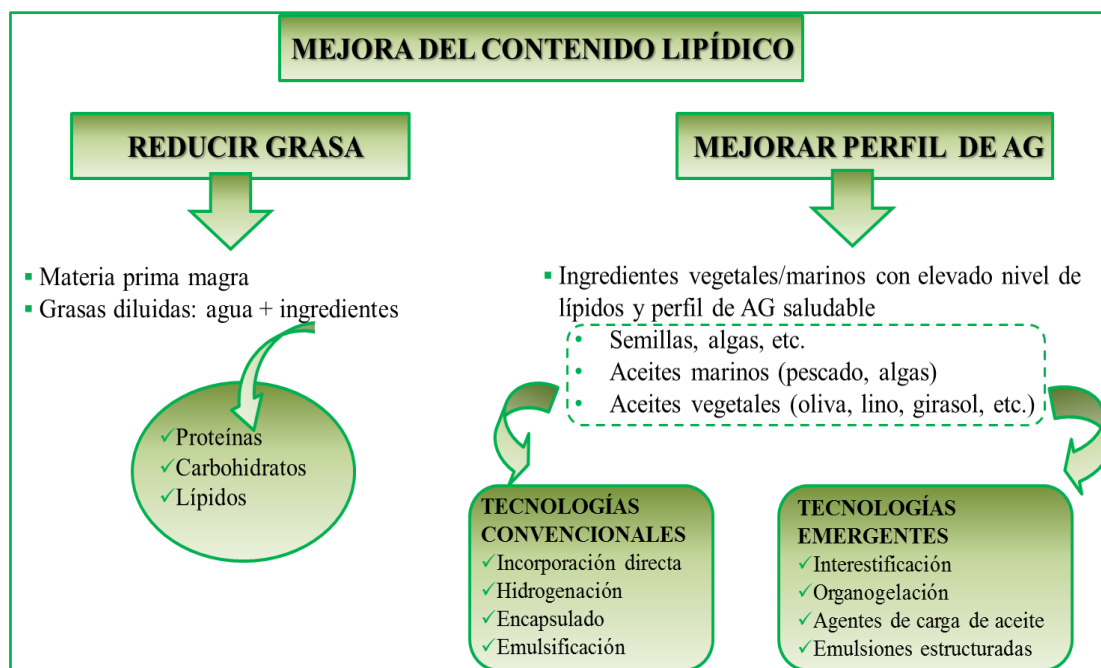
PREDIMED (estudio que trata de prevenir las enfermedades cardiovasculares mediante una “Dieta Mediterránea”), la ingesta deseable de AGM es de un 20 a 25 % de la energía diaria debiendo ser el aceite de oliva la principal fuente lipídica (Ros, et al., 2015).

Los valores mínimos de ingesta de los ácidos grasos esenciales LA (ácido linoleico) y ALA se estiman en 2,5 y 0,5 % para mantener un buen estado de salud (Figura 1.4) (FAO, 2012). Según EFSA (2010a), en general, el rango apropiado de AGP (n-6 y n-3) se sitúa entre el 6 - 11 % de la energía total. Diferentes recomendaciones de ingesta de EPA + DHA se pueden encontrar según los hábitos alimentarios de la población. En tal sentido, mientras en Rusia se sugiere un consumo de 1300 mg EPA + DHA/día (GOED, 2016), en EEUU éste alcanza los 500 mg/día (GOED, 2016; Meyer, 2011). Por otro lado, la EFSA recomienda una ingesta de 250 mg de EPA y DHA para adultos sanos como prevención primaria de ECV (EFSA, 2010a). Además, se han establecido recomendaciones para mantener el ratio AGP/AGS por encima de 0,4 y la proporción de AGP n-6/n-3 por debajo de 4 (Figura 1.4) (Enser, 2000; Wood, et al., 2004).

### **1.3.2 Reformulación de productos cárnicos en relación a su contenido lipídico**

Una vez considerado el efecto que la cantidad y calidad de la grasa tiene sobre nuestro organismo y las recomendaciones de consumo, resulta evidente la conveniencia de optimizar su presencia (cuantitativa y cualitativamente) ya que la carne y derivados son una de las principales fuentes de ingesta de grasa (~ 25 %) (FEN, 2012). La reformulación de los productos, como se comentó en el **capítulo 1.2.1**, constituye la estrategia más utilizada para obtener un elaborado cárnico con un contenido lipídico más saludable (Jiménez-Colmenero, 2007). Para tal fin existen diferentes oportunidades de reformulación basadas fundamentalmente en dos estrategias, reducir los niveles de grasa total y mejorar el perfil de ácidos grasos (reduciendo la presencia de AGS y favoreciendo la de AGM y AGP) en el producto final (Figura 1.5).

A continuación, se detallan diversos aspectos en relación con los procedimientos de reducción de grasa y mejora del perfil de AG, así como sus posibilidades de aplicación en los procesos de reformulación de productos cárnicos.



**Figura 1.5.** Posibles estrategias empleadas en la reformulación de derivados cárnicos para mejorar su contenido lipídico.

### 1.3.3 Reducción de la cantidad de grasa animal

La grasa presente en un derivado cárnico, junto con otros ingredientes, contribuye a impartir sus propiedades organolépticas, reológicas y estructurales (Jiménez-Colmenero, 2007). Su presencia tiene un impacto decisivo en la sensación gusto-olfativa del alimento dado que la mayoría de los componentes volátiles responsables del sabor y aroma son liposolubles (Estevez, et al., 2005; Rivera Ruiz, 2012). Por otro lado, en productos cárnicos tipo emulsión, el nivel de grasa presente condiciona notablemente la estabilidad del mismo (Jiménez Colmenero, 2000). Por todo ello, formular un producto cárnico con un contenido de grasa reducido y características similares a las de su homólogo (contenido habitual de grasa) no es una tarea sencilla.

A pesar de las dificultades indicadas se han reformulado diferentes derivados cárnicos con bajos niveles de grasa. Para ello se han utilizado diferentes estrategias como el empleo de materias primas más magras (proceso que encarece el costo de formulación), y/o la reducción de la densidad de la grasa (dilución) mediante la adición de agua y otros ingredientes (de naturaleza proteica, carbohidrato o lipídica) con escasa o nula aportación calórica y que a su vez, contribuyan a impartir al producto las características deseadas (Figura 1.5). Con este fin, la industria cárnica ha empleado proteínas no tanto de origen vegetal (de soja, trigo, maíz, etc.) (Cengiz y Gokoglu, 2007; Chung, et al., 2014; Drakos, et al., 2007; Gnanasambandam y Zayas, 1992; Hsu y

Sun, 2006; Jeng, et al., 1988) como animal (del suero lácteo, huevo, sangre, etc.) (Cheng, et al., 2009; Shon y Chin, 2008; Viana, et al., 2004; Viana, et al., 2005) aprovechando la aptitud que éstas presentan para ligar agua, su capacidad para estabilizar emulsiones cárnicas, etc. Todo ello posibilita obtener un producto con unas propiedades óptimas: textura más adecuada y próxima a la del control, mayor jugosidad y menores mermas. Diversos carbohidratos (Figura 1.5) se han empleado también como sustitutos de grasa en el desarrollo de productos cárnicos con un contenido lipídico reducido destacando almidones, maltodextrinas, polidextrosa, derivados de la celulosa, fibras, carragenatos, gomas, etc. (Jiménez-Colmenero, 1996). Debido a las propiedades tecnológicas de estos compuestos, se ha conseguido impartir similares propiedades texturales, viscosidad, rendimiento en tratamientos térmicos, estabilidad durante conservación en congelación, etc. en los productos cárnicos reformulados (Banon, et al., 2008; Cierach, et al., 2009; Chevance, et al., 2000; Garcia-Garcia y Totosaus, 2008; Hsu y Chung, 1999; Jimenez-Colmenero, et al., 2013; Jiménez-Colmenero, et al., 2010a; Salcedo-Sandoval, et al., 2015a; Ulu, 2006). También han sido explorados sustitutos de grasa animal de naturaleza lipídica (Figura 1.5) (Jiménez-Colmenero, 1996). Estos además de por sus funciones similares a las de la grasa animal en el producto en el que se incorporan se caracterizan porque no se absorben (total o parcialmente) en el tracto gastrointestinal (Tokusoglu, 2003).

### **1.3.4 Mejora del perfil lipídico.**

Los procesos de reformulación del perfil lipídico se basan, generalmente, en la sustitución en mayor o menor medida de la grasa animal por otra cuyas características estén más en consonancia con las recomendaciones nutricionales y de salud, es decir, menor proporción de AGS y mayor de AGM y AGP (especialmente AGP n-3 de cadena larga), mejores relaciones n-6/n-3 y si es posible libres de colesterol (FAO, 2012; Jiménez-Colmenero, 2007). En este sentido, la sustitución de grasa animal por aceites de origen vegetal y/o marino ha sido uno de los procedimientos más utilizados (Figura 1.5). Sin embargo, estos aceites presentan características físico-químicas diferentes a las de la grasa animal (Grasso, et al., 2014). Para ello estos lípidos deben de quedar bien integrados en el producto y además, no suponer un detrimento de las características sensoriales y tecnológicas del mismo.

Entre los procedimientos generalmente empleados para las incorporación de aceites vegetales y/o marinos en la reformulación de productos cárnicos cabe destacar:

la adición directa en forma líquida o sólida, como aceites encapsulados y emulsionados (Jiménez-Colmenero, 2007).

- *Incorporación directa de aceites líquidos*

Los aceites vegetales o marinos en su mayoría son líquidos a temperatura ambiente o incluso en condiciones de refrigeración y además más susceptibles a procesos de oxidación por su alto contenido en ácidos grasos insaturados, dificultando así su manipulación y estabilidad.

En la elaboración de una gran variedad de productos cárnicos se ha empleado diferentes aceites (Jiménez-Colmenero, 2007). Las condiciones de incorporación varían de acuerdo con diversos factores relacionados con el tipo de producto (grado de desintegración estructural, procesado, etc.) y con las características y la cantidad del aceite añadido. Estos aceites deben adicionarse de tal forma que se evite su pérdida durante los procesos de elaboración, conservación y/o preparación para ser consumidos, a fin de limitar la aparición de atributos no deseables en el producto final (Jiménez-Colmenero, 2007).

En derivados cárnicos formulados con músculos intactos se ha ensayado la incorporación de aceite mediante micro-inyección, aunque este proceso requiere la presencia de otros ingredientes y la aplicación de procesos mecánicos con el fin de favorecer las características del producto (Domazakis, 2005). En elaborados cárnicos cocidos tipo emulsión, la sustitución total de tocino por aceites vegetales (soja, girasol, maíz, algodón, oliva) añadidos de forma líquida disminuyó la firmeza de los mismos (Ambrosiadis, et al., 1996). Sin embargo, la sustitución del 50 % del tocino por aceite de oliva aumentó los valores de textura de los productos (López-López, et al., 2009b). En hamburguesas, la sustitución del 50 % de tocino de cerdo por aceites de girasol y aguacate, adicionados directamente, hizo que los productos fueran más blandos (Rodríguez-Carpena, et al., 2012). En embutidos fermentados, la incorporación directa de aceite de oliva dio lugar a productos de aspecto inaceptable y una textura muy blanda (Bloukas, et al., 1997). Con el fin de aumentar la viscosidad del aceite de oliva Luruena-Martínez, et al. (2004) redujeron su temperatura a -6 °C para ser empleado en la reformulación de salchichas tipo frankfurt con bajo contenido en grasa.

- Hidrogenación

La hidrogenación es un proceso empleado para solidificar aceites basado en aumentar el punto de fusión de las grasas mediante la incorporación de hidrógeno a los ácidos grasos insaturados eliminando así los dobles enlaces (Jiménez-Colmenero, 2007). Sin embargo, este procedimiento produce grasas con elevado contenido de AGS y ácidos grasos *trans* que presentan implicaciones perjudiciales para la salud y por tanto no parecen apropiados para la elaboración de derivados cárnicos con un contenido lipídico óptimo (Jiménez-Colmenero, 2007). No obstante, algunos de estos aceites (de maíz, cacahuete o soja) parcialmente hidrogenados se han empleado como sustitutos de grasa animal (10 %) en la reformulación de hamburguesas de vacuno (Liu, et al., 1991). Además existen algunas grasas vegetales como el aceite de palma, que presentan consistencia sólida a temperatura ambiente. Sin embargo, contienen una elevada cantidad de AGS que no les hace aptos para ser empleados en el desarrollo de productos cárnicos con un perfil lipídico más saludable.

- Encapsulación de aceites

La encapsulación de aceites y/o ácidos grasos n-3, más concretamente (Figura 1.5), es un procedimiento que permite su adición a productos cárnicos dotándolos de gran protección frente a la oxidación lipídica y enmascarando olores y sabores no deseables (Kolanowski y Berger, 1999). El proceso más habitual es el *spray drying*, que consiste generalmente en formar una emulsión utilizando proteínas, polisacáridos así como otros agentes emulsionantes, eliminando posteriormente la fase acuosa por atomización en una corriente de aire seco a alta temperatura y convirtiendo la fase dispersa en polvo. Existen además otras tecnologías que se han empleado para la encapsulación de aceites tales como la coacervación compleja, la extrusión, etc. (Kaushik, et al., 2015; Timilsena, et al., 2017). El aceite de pescado ha sido uno de los más utilizados en procesos de encapsulación (Jiménez-Martín, et al., 2016; Keenan, et al., 2015). La sustitución parcial de grasa animal ( $\leq 15\%$ ) por aceite de pescado encapsulado en la reformulación de hamburguesas de vacuno, a pesar de tener un efecto negativo en la textura del producto final mejoró su rendimiento durante su cocinado (Keenan, et al., 2015). En derivados cárnicos fermentados, por otro lado, la sustitución de grasa animal (10 - 30 %) por aceite encapsulado de semilla de uva, semilla de lino y

de pescado tuvo resultados satisfactorios en las propiedades finales de los productos (Josquin, et al., 2012; Pelser, et al., 2007; Stajic, et al., 2014).

- Emulsificación de aceites

La utilización de aceites en forma de emulsiones para su incorporación como ingrediente en derivados cárnicos en sustitución de su grasa de origen animal (Figura 1.5) se presenta como uno de los procedimientos más convenientes y versátiles por las numerosas ventajas que ofrece (Jiménez-Colmenero, 2007). Entre otras limita las posibilidades de separación de la matriz (por su elevada capacidad de ligazón de grasa), se dispersa fácilmente y favorece la estabilidad del producto desde el procesamiento hasta su consumo (Djordjevic, et al., 2004; Jiménez-Colmenero, 2007).

Una emulsión es una dispersión de dos o más líquidos inmiscibles, generalmente aceite y agua. Uno de los líquidos está disperso (fase dispersa) en forma de gotas de pequeño tamaño (entre 0.1-100 micras) en el otro líquido que es la fase continua o externa (McClements, 1999, 2005). Las emulsiones con el aceite como fase dispersa se conocen como emulsiones de aceite en agua (*oil-in-water*, O/W) y las emulsiones con agua como fase dispersa se conocen como emulsiones de agua en aceite (*water-in-oil*, W/O). Dado que en la industria cárnica son las emulsiones O/W las más estudiadas y empleadas, será en estas en las que nos centremos en la presente memoria.

Aunque las emulsiones están formadas por agua y aceite como componentes mayoritarios, también contienen, en menor proporción, otro ingrediente que juega un importante papel en la formación y estabilidad de las mismas. Se trata del agente emulsificante o surfactante (tensoactivo), sustancia anfifílica (con grupos hidrofílicos e hidrofóbicos) con la capacidad para servir de puente al unirse a la molécula del aceite por su parte hidrofóbica y al agua por su parte hidrofílica. El tipo de emulsión que se tiende a formar depende del balance entre las propiedades hidrófilas e hidrófobas del agente emulsificante (Robins, 2000). Entre los emulsionantes más utilizados destacan aquellos de naturaleza proteica, aunque se han empleado también otros tales como ciertos hidrocoloides y fosfolípidos (McClements, 1999). Los emulsionantes se adhieren a la superficie de las gotas de aceite formando una capa protectora que evita la agregación de las mismas. En una emulsión, por lo tanto, se diferencian básicamente tres partes: i) fase dispersa (gotas de aceite), ii) la interfase que las rodea y iii) fase continua. Cada uno de los ingredientes que forman la emulsión se localizan en cada una de ellas en función de su concentración y polaridad, y aunque el sistema se encuentre en

equilibrio, existe un movimiento continuo de las moléculas entre las diferentes fases de la emulsión (McClements, 1999). Además, estas moléculas pueden migrar de una región a otra cuando existe alguna alteración del medio (cambios de temperatura, pH, etc.). La localización y transporte de moléculas dentro de una emulsión tiene una influencia importante en el aroma, sabor, textura y estabilidad fisicoquímica (McClements, 1999).

Se han ensayado numerosos procedimientos para la elaboración de emulsiones que posteriormente se utilizarán como sustitutos de grasa animal en productos cárnicos. Entre ellas, una de las más empleadas ha sido la descrita por Hoogenkamp (1989) cuyo proceso se basa en disolver en ocho partes de agua caliente (50 - 60 °C) una de aislado de proteína de soja o caseinato y emulsionar la mezcla con diez de aceite.

La sustitución parcial y total de grasa animal por aceite de oliva emulsionado con SPI en productos tipo hamburguesa mejoró las propiedades ligantes de agua y grasa durante el tratamiento térmico de los productos (López-López, et al., 2011). Diversos estudios se han llevado a cabo también en productos cárnicos cocidos en los que parte de la grasa animal se ha sustituido por emulsiones de aceite de oliva, pescado, girasol, lino o combinaciones de ellos, emulsionados con aislado de proteína de soja, caseinato o carragenato. Esto permite obtener productos con un perfil lipídico mejorado y propiedades tecnológicas aceptables (Berasategi, et al., 2014; Delgado-Pando, et al., 2010a; Herrero, et al., 2012; Paneras y Bloukas, 1994; Youssef, et al., 2011).

#### *1.3.4.1 Opciones tecnológicas emergentes para la estabilización y estructuración de aceites.*

En la última década han surgido diferentes estrategias para estabilizar y estructurar aceites (Figuras 1.5 y 1.6). Tales tecnologías están siendo ensayadas con el fin de obtener grasas plásticas que exhiban propiedades sólidas (similares a las de la grasa animal) a la vez que posean un perfil de ácidos grasos más acorde a las recomendaciones de salud (**Capítulo 1.3.1**). Estos procedimientos para estructurar aceites se basan fundamentalmente en procesos de: i) interestificación; ii) organogelación; iii) formación de agentes de carga de aceite y iv) formación de emulsiones estructuradas (Figura 1.6) (Co y Marangoni, 2012; Dickinson, 2012; Jiménez-Colmenero, et al., 2015; McClements, 2012).





**Figura 1.6.** Opciones tecnológicas emergentes de estabilización y estructuración de aceites

- Interestificación

La interestificación es un procedimiento que consiste en modificar la disposición y/o composición de los ésteres de ácidos grasos que forman los triacilglicéridos (TGC) alterando así su forma natural, bien mediante un proceso químico o enzimático. Su objetivo es obtener una molécula con funciones tecnológicas (físicas u organolépticas), nutricionales (digestibilidad) o incluso de salud (efectos metabólicos) específicas (Hernandez y Kamal-Eldin, 2013). La incorporación de aceites vegetales interestificados se ha ensayado en productos cárnicos cocidos (Cheong, et al., 2010; Oezvural y Vural, 2008; Vural, et al., 2004) o fermentados (Javidipour, et al., 2005; Vural, 2003). Estudios recientes están poniendo de manifiesto que el consumo de aceites solidificados (oliva y soja) obtenidos mediante interestificación enzimática ayuda a controlar el sobrepeso gracias a que permite una absorción menor de los ácidos grasos que componen el sistema (Moreira, et al., 2017).

- Organogelación

Debido a la relevancia de los mecanismos de gelificación en los procesos de estructuración de aceites que a continuación se describen diversos aspectos sobre los mismos. En general, aunque no existe una definición universal de gel, éste puede definirse como una red estructural con resistencia mecánica, viscoelasticidad y capaz de inmovilizar un líquido evitando la sinéresis del mismo (Co y Marangoni, 2012;

Jiménez-Colmenero, et al., 2015; Panyam y Kilara, 1996; Shapiro, 2011). Según la naturaleza del líquido inmovilizado (polar u orgánico), los geles pueden clasificarse en hidrogeles (soluciones acuosas inmovilizadas) u organogeles (se inmovilizan líquidos orgánicos) (Co y Marangoni, 2012).

Un organogel (denominado **oleogel** cuando el aceite es de uso alimentario) puede definirse como un líquido orgánico (aceite) atrapado dentro de una estructura de gel tridimensional inducida por un agente gelificante (organogelificante), termorreversible y con propiedades viscoelásticas (Co y Marangoni, 2012; Stortz, et al., 2012). Estos materiales pueden contener proporciones de aceite superiores al 97 % en peso y estructura de elevada consistencia (Patel, 2014). Para su formación, los organogeles necesitan unas condiciones térmicas (temperatura alta) y de cizallamiento específicas que variarán según el tipo de organogelificante. La formación de oleogeles, principalmente se lleva a cabo por autoensamblaje (formado por la auto-organización a nivel molecular en la fase oleosa) y por cristalización (partículas de cristal que se producen a través de nucleación y posterior crecimiento de los cristales en la fase oleosa) (Sagiri, et al., 2014). Además, existe la posibilidad de formar oleogeles a partir de emulsiones O/W estables a las que se les extrae el agua (aplicando tratamientos de calor) de forma que se obtienen sistemas formados por más de un 95 % de aceite estabilizado en una red (Patel, 2014; Tavernier, et al., 2017). Otra clasificación de los organogeles se basa en si los organogelificadores empleados son compuestos de bajo peso molecular o polímeros. Entre los primeros se incluyen triglicéridos, diglicéridos, etc. Sin embargo, el empleo de polímeros como la etilcelulosa son los que ofrecen mayores posibilidades para su aplicación en alimentos por su potencial como agentes gelificantes (Patel, 2014; Zettel, et al., 2015).

El uso de oleogeles en alimentación presenta diferentes posibilidades entre las que destaca mayor capacidad para ligar el aceite en la matriz alimentaria, reducir la presencia de AGS y *trans* o la mejora de la estabilidad de emulsiones alimentarias en las que se incorporen. Además, el desarrollo de tales estructuras puede favorecer la formación de micelas durante la digestión del alimento, mejorando la biodisponibilidad de compuestos bioactivos liposolubles y adicionalmente, regular los niveles de grasa postprandial en sangre (Jiménez-Colmenero, et al., 2015). Sin embargo, a pesar de sus prometedoras aplicaciones en alimentación, incluyendo la gastronomía molecular (Rogers, et al., 2014), aún son pocas en las que se han empleado. Entre los productos elaborados con oleogeles cabe señalar algunas salsas, galletas, cremas y determinados

productos cárnicos (cocidos principalmente) (Barbut, et al., 2016; Jang, et al., 2015; Mert y Demirkesen, 2016; Stortz, et al., 2012; Yilmaz y Ogutcu, 2014; Zettel, et al., 2015; Zulim Botega, et al., 2013). En derivados cárnicos el empleo de oleogeles se limita a productos que presentan un elevado grado de desintegración estructural. Por ejemplo, en salchichas tipo frankfurt en las que se sustituyó la grasa animal por oleogeles elaborados con aceite de canola gelificado con etilcelulosa se observó una textura próxima a la de las elaboradas con grasa de vacuno (Zetzl, et al., 2012). El empleo de oleogeles en el desarrollo de las salchichas dio lugar a productos con un perfil lipídico mejorado, y propiedades sensoriales aceptables (Wood, 2013; Zetzl, et al., 2012).

- Agentes de carga de aceites

Una forma alternativa de estabilizar/estructurar el aceite es la formación de agentes de carga (*oil bulking agent*) que consiste en una dispersión de un gran número de gotas de aceite en una matriz de gel acuosa. De esta forma, el aceite queda atrapado físicamente en una estructura de red de hidrogel que proporciona solidez al sistema haciéndolo apto para su uso como análogo de grasa, y por lo tanto ser incorporado por ejemplo en productos cárnicos (Herrero, et al., 2014a; Jiménez-Colmenero, et al., 2015). En general, la formación de estos sistemas es relativamente sencilla puesto que se basa en dispersar y homogenizar el aceite en la fase acuosa e inducir posteriormente la gelificación de ésta mediante la acción de un agente gelificante. Diversos hidrocoloides se han utilizado como agentes gelificantes, de forma individual o combinando varios. Entre ellos, cabe señalar harina de konjac glucomanano, alginato o mezclas de alginato-inulina y alginato-dextrina (Herrero, et al., 2014a; Salcedo-Sandoval, et al., 2013; Stajic, et al., 2014; Triki, et al., 2013b). Por sus adecuadas características tecnológicas, este tipo de material lipídico se ha empleado como sustitutos de grasa animal en varios derivados cárnicos cocidos (Ruiz-Capillas, et al., 2013; Salcedo-Sandoval, et al., 2015c), fermentados (Jiménez-Colmenero, et al., 2013; Triki, et al., 2013c) y frescos (Salcedo-Sandoval, et al., 2015a; Triki, et al., 2013a).

- Emulsiones estructuradas

Las emulsiones convencionales de aceite, como se ha comentado, a pesar de ser muy empleadas pueden presentar algunos inconvenientes, fundamentalmente debido a

fenómenos de inestabilidad (sedimentación o cremado, floculación, coalescencia, etc.) (McClements, 2005). Además, a no ser que exista una elevada concentración de la fase dispersa que quede empaquetada en la estructura de la emulsión, no adquieren una textura sólida (McClements, 2012). Estas limitaciones han conducido al diseño de nuevos materiales lipídicos en forma de emulsiones estructuradas (Figura 1.6). Éstos podrían definirse como un sistema coloidal complejo en el que coexisten una estructura de emulsión y de gel (Ajazuddin, et al., 2013; Ching, et al., 2015; Ching, et al., 2016; Dickinson, 2012; Felix, et al., 2017; Liu, et al., 2016; Mantovani, et al., 2016; Wang, et al., 2017). Se distinguen básicamente tres tipos de emulsiones estructuradas cuyas características vienen determinadas por las condiciones de diseño, preparación, y en especial por su estructura: a) emulsiones preparadas con diversas capas alrededor de las partículas (*layering*), b) emulsiones estructuradas mediante agrupamiento de partículas (*clustering*) y c) sistemas formados porque las partículas de las emulsiones se encuentran incrustadas (*embedding*) en el seno de otra fase líquida, en un hidrogel, o en una fase sólida (McClements, 2012). Sin embargo, el procedimiento que parece garantizar una estructuración del aceite para proveer una emulsión con una textura más sólida es la incrustación (Jiménez-Colmenero, et al., 2015). Para la obtención de estos materiales lipídicos se parte de una emulsión primaria convencional (O/W o W/O), que en forma de gotas queda incrustada en una red de gel, bien formada mediante la gelificación de la fase acuosa (**emulsión hidrogelificada**) o gelificación de la fase oleosa (**emulsión organogelificada**) (Figura 1.6).

La **organogelificación de emulsiones W/O** se basa en la inmovilización de gotas de agua (fase dispersa) en una red de gel establecida en la fase oleosa. Su formación precisa de dos etapas principales, una relacionada con la mezcla del aceite y el organogelificante (ej. B-sitosterol:γ-orizanol en aceites de oliva, maíz y girasol a 90 ° C) y la segunda que es en la que se homogeniza con la fase acuosa, donde está presente el agente emulsionante (Duffy, et al., 2009; Hughes, et al., 2009). Con unas adecuadas condiciones de formulación y procesamiento, las emulsiones organogelificadas pueden tener aplicación como productos untables de bajo contenido graso o para controlar la liberación de compuestos bioactivos hidrófilos e hidrófobos. A pesar de las ventajas que pueda suponer el empleo de estos nuevos materiales lipídicos en la formulación de productos cárnicos saludables, las aplicaciones ensayadas son escasas. No obstante, algunos autores han formulado salchichas tipo frankfurt (20 % de grasa) en las que el 50 % de la grasa animal fue sustituida por emulsiones de aceite de girasol

organogelificadas empleando fitoesterol y  $\gamma$ -orizanol (emulsiones con 50 % de fase oleosa y 50 % de fase acuosa) (Panagiotopoulou, et al., 2016). Las salchichas obtenidas presentaron propiedades tecnológicas y sensoriales adecuadas para este tipo de productos.

En relación a la organogelificación de emulsiones W/O, una de las aplicaciones principales es la obtención de emulsiones dobles estructuradas. Para entender este tipo de aplicación es preciso conocer primeramente qué son las emulsiones dobles (emulsiones de emulsiones): son sistemas multicompartimentalizados, caracterizados por la coexistencia de emulsiones O/W y W/O, en las que los glóbulos de la fase dispersa contienen dentro de ellos gotas de menor tamaño (Jiménez-Colmenero, 2013). Las más comunes son las de tipo W/O/W (gotas de agua dispersas en aceite que a su vez se rodean de una fase acuosa) y O/W/O (gotas de aceite dispersas en una fase acuosa y a su vez todo ello rodeado de una fase oleosa) (Dickinson, 2011; Jiménez-Colmenero, 2013; McClements, 1999). En este tipo de emulsiones, dado que existen dos interfases agua-aceite, es necesaria la presencia de dos tipos de agentes emulsionantes. Brevemente, la formación de emulsiones múltiples del tipo W/O/W comienza con la preparación de una emulsión W/O para lo que es necesario un agente emulsionante lipofílico (ej. Polirricinoleato de poliglicerol, PGPR). A continuación, este sistema se emulsiona con una solución acuosa en la que agentes emulsionantes hidrofílicos están disueltos (caseinato sódico, como el más común) (Cofrades, et al., 2013; Dickinson, 2011; Serdaroğlu, et al., 2016b). Por sus propiedades, entre ellas la capacidad de atrapar y proteger diversas sustancias y producir su liberación controlada desde el interior de una fase a otra estos sistemas pueden resultar potencialmente útiles en la elaboración de alimentos saludables. En la industria alimentaria, incluida la cárnica, se han empleado en procesos de reducción de grasa, enmascaramiento de sabores y mejora de las propiedades sensoriales de los productos. Además de la liberación controlada y protección de ingredientes lábiles durante el procesado y la conservación de alimentos o incluso de la acción de cierta actividad enzimática tras su ingesta (Jiménez-Colmenero, 2013; Jiménez-Colmenero, et al., 2015; McClements, 2012). En productos cárnicos cocidos tipo emulsión, por ejemplo se han empleado como sustitutos de grasa animal con el fin de mejorar su contenido lipídico consiguiendo resultados esperanzadores (Bou, 2013; Cofrades, et al., 2013; Cofrades, et al., 2014; Freire, et al., 2016; Serdaroğlu, et al., 2016b).

La elaboración de emulsiones dobles organogelificadas, con un perfil de ácidos grasos saludables requiere la selección de adecuados emulsionantes y aceites. En tal sentido, para obtener emulsiones O/W/O sólidas, generalmente se selecciona una fase orgánica externa que proporcione al sistema unas propiedades tecnológicas y sensoriales óptimas para poder emplearse como sustituto de grasa animal en la reformulación de derivados cárnicos (Jiménez-Colmenero, et al., 2015). Estos sistemas a pesar de las posibilidades que ofrecen en el desarrollo de productos cárnicos saludables en relación a su perfil lipídico, tienen también una aplicación muy limitada.

Debido a la relevancia que presentan las **emulsiones hidrogelificadas** O/W en el contexto del trabajo realizado en esta Tesis, los aspectos más relevantes de este tipo de emulsiones se comentan de forma detallada a continuación.

### **1.3.5 Emulsiones hidrogelificadas**

Una emulsión hidrogelificada (emulsión gelificada, EG) puede definirse como una emulsión O/W embebida en una estructura de red de gel (*network*) con propiedades mecánicas de sólido. Es decir, un material coloidal complejo en el que coexisten estructuras de emulsión y gel (Dickinson, 2012, 2013). Generalmente, su formación consta de dos etapas, una primera en la que se elabora una emulsión O/W con surfactantes hidrofílicos, generalmente proteínas y una segunda fase en la que se obtiene la EG gracias a la formación, en la fase acuosa, de una estructura reticulada (*cross-linked*) de biopolímeros y/o la agregación de gotas de la emulsión (*emulsion droplets*) (Dickinson, 2012). Las propiedades reológicas de estas EG estarán determinadas fundamentalmente por las características estructurales de la matriz hidrogelificada, en tal sentido su resistencia o rigidez aumentará con concentraciones proteicas mayores o disminuyendo el tamaño de gota en la emulsión primaria (Matsumura, et al., 1993; Tang, et al., 2013). Por otro lado, dependiendo de si las partículas de emulsión interaccionan o no con la red de gel, éstas se clasifican como activas o inactivas, lo que condiciona sus propiedades reológicas (Dickinson, 2012, 2013).

En relación a la elaboración de estas EG, como se ha descrito, deben considerarse la fase lipídica, los emulsionantes y el proceso de gelificación necesarios para su formación, estabilización y estructuración.

- Fase lipídica

Diferentes tipos de aceites, tanto de origen vegetal como marino han sido empleados como fase lipídica de emulsiones convencionales y gelificadas (Jiménez-Colmenero, et al., 2015). La elección de estos aceites se ha basado fundamentalmente en su composición de ácidos grasos, generalmente con un contenido elevado de AGM y AGP por sus implicaciones positivas en la salud. Entre todos ellos, el aceite de oliva, por sus propiedades y aceptación, ha sido uno de los que más atención ha recibido.

- *Aceite de oliva*

El aceite de oliva es la principal fuente de grasa de la denominada “Dieta Mediterránea” (Sánchez-Muniz, 2007), la cual ha recibido un gran reconocimiento e interés internacional como modelo saludable de alimentación (Huang y Sumpio, 2008; Piscopo, 2009).

El aceite de oliva se obtiene del fruto del olivo (*Olea europaea* L.) sin haberlo sometido a manipulaciones ni a ninguna forma de tratamiento no autorizada (Codex Alimentarius, 1981). La composición del aceite de oliva se divide en componentes mayoritarios y minoritarios. Los mayoritarios suponen más del 98% del peso total y son fundamentalmente triacilgliceroles, mientras que los minoritarios son más de 230 compuestos, muchos de los cuales poseen capacidad antioxidante (Borges, et al., 2017; Sánchez-Muniz, 2007). A pesar de que su composición en ácidos grasos varía levemente dependiendo del clima, suelo, variedad de la aceituna utilizada, etc., los porcentajes de AGS, AGM (oleico, principalmente) y AGP suelen oscilar en torno al 17%, 71% y 11%, respectivamente (Delgado-Pando, et al., 2010b). Además, el balance entre los ácidos grasos de las familias n-6 y n-3 es mejor que el de otros muchos aceites consumidos en España (Borges, et al., 2017; Sánchez-Muniz, 2007). Especial atención hay que prestar a aquellos componentes que se encuentran en menor proporción (carotenos, escualeno y otros hidrocarburos, tocoferoles, fitoesteroles, polifenoles, etc.) puesto que confieren al aceite interesantes propiedades, incluidas las organolépticas. En tal sentido, se podría destacar la presencia de dos antioxidantes; por un lado el hidroxitirosol y por otro la vitamina E. Un consumo moderado de aceite de oliva aporta la mayor parte de las recomendaciones dietéticas de esta vitamina (Instituto de Salud Pública, 2005; Sánchez-Muniz, 2007).

En base a su composición, el aceite de oliva puede presentar varios tipos de declaraciones nutricionales y de propiedades saludables (Tabla 1.2), pudiéndose considerar un alimento funcional. Atendiendo a estas consideraciones, el aceite de oliva ha sido ampliamente utilizado en la reformulación de productos cárnicos con un contenido lipídico mejorado (Jiménez-Colmenero, 2007; Jiménez-Colmenero, et al., 2015).

**Tabla 1.2.** Ejemplos de posibles declaraciones nutricionales y de propiedades saludables del aceite de oliva en base a su composición (Comisión Europea, 2006, 2012a; Serrano Morago y Lezcano Martín, 2005).

Nutriente (g/100 g de aceite)	Declaraciones nutricionales	Condiciones de uso	Propiedades saludables
<b>AGM</b> (~ 71 g/100 g)	Alto contenido de grasas monoinsaturadas	Si al menos un 45 % de los AG proceden de grasas monoinsaturadas y éstas aportan más del 20 % del valor energético del producto	Contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.
<b>AGM y AGP</b> (~ 82 g/100 g)	Alto contenido de grasas insaturadas	Si al menos un 70 % de los AG proceden de grasas insaturadas y éstas aportan más del 20 % del valor energético del producto	Contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.
<b>Polifenoles del aceite de oliva</b>		Contener al menos 5 mg de hidroxitirosol y derivados por 20 g de aceite de oliva. Se notificará al consumidor que el efecto beneficioso se obtiene con una ingesta diaria de 20 g de aceite de oliva.	Contribuyen a la protección de los lípidos de la sangre frente al daño oxidativo.
<b>Vitamina E</b> (5,1 mg/100g)	Alto contenido de vitamina E	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 3,6 mg/100 g).	Contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo.

- Emulsionantes

Como se detalló en el **capítulo 1.3.4**, en la formación y estabilización de emulsiones O/W convencionales y gelificadas se han empleado diversos biopolímeros (proteínas principalmente) como emulsionantes (Dickinson, 2013; McClements, 2005). En la industria alimentaria cobra especial relevancia el uso de proteínas vegetales, como la de soja, o proteínas de origen animal tales como lácteas o del huevo (Dickinson, 2012, 2013). Sin embargo, resulta de interés explorar las posibilidades de otros ingredientes vegetales (como se detallará más adelante en el **capítulo 1.3.5.1**) que



presentan una concentración de proteínas apropiada y con propiedades emulsionantes adecuadas para la formación y estabilización de emulsiones.

- *Procesos de gelificación*

El proceso de gelificación para obtener EG se puede llevar a cabo fundamentalmente mediante procedimientos térmicos, enzimáticos o químicos (Dickinson, 2012).

En la formación de EG mediante tratamiento térmico se emplean generalmente proteínas globulares (proteína de suero,  $\beta$ -lactoglobulinas, proteína de yema de huevo, etc.) que forman geles en soluciones acuosas a concentraciones suficientemente elevadas (Dickinson, 2012). En este sentido, por ejemplo se ha descrito que la  $\beta$ -lactoglobulina, como muchas proteínas globulares, se desnaturaliza y agrega a una temperatura de 70 ° C. Esta agregación y posterior gelificación son una consecuencia del desarrollo de interacciones hidrofóbicas entre las regiones no polares expuestas de las moléculas de  $\beta$ -lactoglobulina (Dickinson, 2012). Como alternativa a estos procesos surge la aplicación de alta presión hidrostática para conseguir la desnaturalización y agregación de proteínas globulares (Dickinson y James, 1998). Se ha mostrado que la combinación de aplicar alta presión estática y procesos térmicos puede resultar una opción más efectiva (Puppo, et al., 2011).

La elaboración de EG por tratamiento en medio ácido se basa en el hecho de que algunas proteínas, caseínas especialmente, tienen la particularidad de poder gelificar al disminuir el pH del medio, concretamente cuando se alcanza su punto isoeléctrico (Dickinson, 2006). En emulsiones estabilizadas con caseinato, para conseguir una acidificación progresiva del medio, una de las vías más empleadas es la hidrólisis de la glucono- $\delta$ -lactona (GDL). De esta forma se consigue que las caseínas formen una red de gel en la que las gotas de la emulsión quedan atrapadas. Aunque otras proteínas del suero lácteo son menos susceptibles de gelificar a un pH determinado, si previamente son desnaturalizadas mediante tratamiento térmico, posteriormente pueden gelificar mediante acidificación (Dickinson, 2012). Esta estrategia permite obtener sistemas estables y rígidos con una relación proteína/aceite baja.

Otro mecanismo en la obtención de EG es el enzimático. Dicho proceso consiste en la formación de enlaces covalentes entre proteínas gracias a la acción de la enzima transglutaminasa de origen microbiano (MTG) (Dickinson y Yamamoto, 1996). Estos sistemas tienen un comportamiento mecánico diferente a los anteriormente descritos

atribuido al carácter covalente de los enlaces formados, se caracterizan por ser más elásticos, similar al de un material gomoso (Dickinson y Yamamoto, 1996). Todo ello es coherente con el hecho de que los sistemas gelificados enzimáticamente presenten un comportamiento típico de un gel polimérico con enlaces “químicos” permanentes, mientras que sistemas gelificados mediante tratamiento térmico presentan un comportamiento reológico más típico de un gel “físico” con enlaces susceptibles de romperse (Dickinson, 2012). Dada la importancia de la MTG como agente gelificante en el contexto de la Tesis se describirá de forma más extensa en el **capítulo 1.3.5.2**.

La adición de iones ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  etc.) es también otra forma de promover la gelificación de emulsiones (Dickinson, 2012; Tang, et al., 2011; Zhu, et al., 2016). Así por ejemplo, en EG estabilizadas con  $\beta$ -lactoglobulina, se ha observado que cuando son preparadas con concentraciones bajas de  $\text{Ca}^{2+}$  se forman estructuras que favorecen la capacidad para ligar agua (Sok Line, et al., 2005). Por otro lado, también con  $\text{Ca}^{2+}$  y en presencia de alginato se induce la gelificación de la emulsión. Dado el interés que ocupa en el presente trabajo, el mecanismo de gelificación del alginato, éste se abordará de forma más extensa en el **capítulo 1.3.5.2**.

Además de las proteínas, existen otra serie de compuestos (Tween 20, lecitina, glicerol, etc) que participan en la estabilización de una emulsión y que pueden inducir la formación de EG (Dickinson, 2012). Así por ejemplo, Poyato, et al. (2014) han estudiado polisorbato 80 para elaborar EG con diferentes combinaciones y proporciones de aceite de lino y carragenato. Otros autores han desarrollado EG elaboradas con aceite de oliva (50 %) y una combinación de gelatina, inulina y PGPR (Serdaroğlu, et al., 2016a).

#### *1.3.5.1 Ingredientes vegetales (chía y avena) y su papel en la formación de emulsiones*

Como ya se ha comentado anteriormente, algunos ingredientes vegetales con una concentración de proteína elevada presentan interesantes propiedades tecnológicas (capacidad emulsionante, gelificante, propiedades ligantes de agua y grasa, etc.) que podrían tener un enorme potencial en la formación y estabilización de EG. Además, estos ingredientes pueden contener compuestos con implicaciones beneficiosas en la salud y su presencia permitiría dotar a las EG de una composición más saludable (Biesalski, et al., 2009). En este sentido, productos tales como la chía o la avena pueden ofrecer interesantes posibilidades.

- Chía

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una planta herbácea, anual, perteneciente a la familia de las lamiáceas, cuyo origen data de la época precolombina en Mesoamérica. Las semillas de chía (Figura 1.7) presentan una forma ovalada de aproximadamente dos milímetros de longitud. Suelen ser de color gris oscuro, aunque la tonalidad varía según las condiciones y/o zonas de cultivo, pudiendo encontrar incluso semillas de color blanco (Muñoz, et al., 2013; Valdivia-López y Tecante, 2015).



**Figura 1.7.** Semilla de chía.

- *Aspectos nutricionales*

La concentración de nutrientes de la semilla de chía pueden variar según la condición climática y la ubicación del cultivo (Ayerza y Coates, 2011; Muñoz, et al., 2013). En tal sentido, su contenido proteico, próximo al 21 % (Tabla 1.3), es mayor que el de otros cereales consumidos habitualmente y además no contiene gluten por lo que puede incluirse en dietas para celíacos (Ixtaina, 2010). La fracción proteica está constituida principalmente por globulinas (> 50 %) (Sandoval-Oliveros y Paredes-Lopez, 2013; Segura-Campos, et al., 2013), con un balance de aminoácidos esenciales excelente, a pesar de que el nivel de lisina no llega a los estándares establecidos por la OMS para niños (WHO, 1985). Cabe destacar la presencia de metionina y cistina cuyos valores son superiores a los presentes en proteínas de otras semillas (Ayerza y Coates, 2004; Ayerza y Coates, 2009; Bushway, et al., 1981; Vázquez-Ovando, et al., 2010). Además, en aislados de proteína de chía se han encontrado concentraciones elevadas de

ácido glutámico, arginina y ácido aspártico, aminoácidos importantes para el buen desarrollo del sistema inmunológico y la prevención de enfermedades del corazón (Julio, et al., 2016).

La fracción lipídica de la semilla de chía se sitúa en torno a 31 - 33 % (Tabla 1.3) y se caracteriza por su elevado porcentaje de ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA) (62 - 64 %) (Ayerza, 1995). Además, la proporción de ácidos grasos esenciales (LA y ALA) que forma el 82,3 %, es más elevada que en otras fuentes vegetales más empleadas tales como el cártamo (75 %), el lino (72 %) y el girasol (67%) (Ixtaina, 2010). En relación con el pescado azul, fuente de n-3, la semilla de chía contiene hasta diez veces más de este tipo de ácidos grasos, si bien sin la presencia de DHA y DPA (Figura 1.8). Por ello, se puede considerar a la semilla de chía como una fuente de lípidos saludables, tanto por el elevado contenido de ALA, como por su relación n-6:n-3 (1:3) (Valdivia-López y Tecante, 2015).

**Tabla 1.3.** Composición de la semilla de chía. <sup>1</sup> EFSA (2009), <sup>2</sup> Ixtaina (2010)

Composición de la semilla de Chía					
Macronutrientes (g/100 g)		Minerales (mg/100g)		Vitaminas (mg/100 g)	
Proteína <sup>1</sup>	21,1	Sodio <sup>1</sup>	0,94-12,15	Vitamina A	44 IU
Grasa <sup>1</sup>	31,5-32,8	Potasio <sup>2</sup>	700	Vitamina C <sup>1</sup>	5,4-<3
- C16:0 Palmítico <sup>1</sup>	2,1-2,2	Calcio <sup>2</sup>	714	Vitamina E <sup>1</sup>	0,74
- C18:0 Esteárico <sup>1</sup>	0,94-0,98	Hierro <sup>2</sup>	16,4	Tiamina <sup>2</sup>	0,18
- C18:1w9 Oleico <sup>1</sup>	2,2-2,3	Magnesio <sup>2</sup>	390	Riboflavina <sup>2</sup>	0,04
- C18:2w6 Linoleico <sup>1</sup>	6-6,2	Fósforo <sup>2</sup>	1067	Niacina <sup>2</sup>	6,13
- C18:3w3 Linolénico <sup>1</sup>	19,4-20,2	Zinc <sup>2</sup>	3,7-4,95	Vitamina B <sub>6</sub> <sup>1</sup>	0,1
Carbohidratos <sup>1</sup>	37,5	Cobre <sup>2</sup>	1,2-1,94		
Fibra dietética (FD) <sup>1</sup>	34-41	Manganeso <sup>2</sup>	2,3		
- FD soluble <sup>1</sup>	3,1-5,3				
- FD insoluble <sup>1</sup>	30,4-35,9				

La semilla de chía se caracteriza además por su elevado contenido de fibra dietética, significativamente mayor que en otros cereales (cebada, trigo, avena, maíz, etc.) (Figura 1.8) (Ixtaina, 2010). Esta fracción está constituida prácticamente por fibra insoluble (30 - 36 g/100 g semilla, Tabla 1.3). Su componente mayoritario es la lignina, que presenta elementos a los que se les atribuido capacidad antioxidante, aspecto de especial relevancia dado el alto contenido de ácidos grasos insaturados que contiene (Valdivia-López y Tecante, 2015). Al hidratar la semilla, la parte de fibra soluble (3 - 5 g/100 g semilla, Tabla 1.3) forma un mucílago, material que presenta un aspecto

gelatinoso. Se trata de un polisacárido lineal compuesto por D-xilosa, D- glucosa, 4-o-metil-D-ácido glucurónico en proporciones de 2:1:1 (Ixtaina, 2010).



**Figura 1.8.** Algunos aspectos nutricionales de la semilla de chía en comparación con otros alimentos.

Cabe mencionar además que la chía es rica en vitaminas (Tabla 1.3). Destaca la presencia de las del grupo B con niveles de niacina superiores a la de otros cultivos tradicionales (maíz, soja, arroz) y concentraciones de tiamina y riboflavina similares a las del arroz y el maíz (Ixtaina, 2010). También es importante su aporte de vitamina A (Valdivia-López y Tecante, 2015). La semilla de chía, además proporciona minerales como calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, zinc y cobre (Tabla 1.3). Su contenido en alguno de ellos (calcio, fósforo o potasio) es considerablemente más elevado que el encontrado en cereales como el trigo, arroz, cebada, etc. e incluso contenidos superiores que en la leche (Figura 1.8) (Ixtaina, 2010; USDA, 2002). En la semilla de chía, además es importante su contenido de polifenoles, caracterizados con actividad antioxidante (de Falco, et al., 2017). Estudios recientes han señalado a la semilla de chía como fuente de isoflavonas (Martínez-Cruz y Paredes-López, 2014). En consonancia con su composición, son varias las alegaciones (nutricionales y de propiedades saludables) que se le pueden atribuir a la semilla de chía según los Reglamentos (CE) n° 1924/2006 y 432/2012 (Tabla 1.4) (Comisión Europea, 2006, 2012a).

**Tabla 1.4.** Ejemplos de posibles declaraciones nutricionales y de propiedades saludables atribuidas a la semilla de chía en base a su composición (Comisión Europea, 2006, 2010, 2012a; Ixtaina, 2010).

Nutriente (g/100 g de chía)	Declaración nutricional	Condiciones de uso	Propiedades saludables
<b>AGM y AGP (~ 28 g/100 g).</b>	Alto contenido de grasas insaturadas.	Si al menos un 70 % de los AG proceden de grasas monoinsaturadas y éstas aportan más del 20 % del valor energético del producto	Sustituir grasas saturadas por insaturadas contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.
<b>Ácido <math>\alpha</math>-linolénico (ALA) (~ 20 g/100 g).</b>	Alto contenido de AG omega-3.	Si contiene al menos 0,6 g de ALA por 100 g y 100 kcal.	Contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo Son necesarios para el crecimiento y desarrollo normal de niños.
<b>Fibra (34 – 41 g/100g).</b>	Alto contenido de fibra.	Si contiene como mínimo 6 g de fibra por 100 g	
<b>Hidratos de carbono (37,5 mg/100g).</b>		Si contiene un mínimo de 20 g de hidratos de carbono metabolizables, excepto polialcoholes, por porción cuantificada y que sean conformes con las declaraciones nutricionales “bajo contenido de azúcar” o “sin azúcares añadidos”	Contribuyen a mantener una función cerebral normal
<b>Niacina (6,13 mg/100g).</b>	Alto contenido de niacina.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 4,8 mg/100 g).	Contribuye: - al metabolismo energético y la función psicológica normal - al funcionamiento normal del sistema nervioso - al mantenimiento de las mucosas, piel Ayuda a disminuir el cansancio y la fatiga
<b>Tiamina. (0,18 mg/100g)</b>	Alto contenido de tiamina.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 0,16 mg/100 g).	Contribuye al: - metabolismo energético y función psicológica normal - funcionamiento normal del sistema nervioso y corazón
<b>Calcio (Ca) (714 mg/100g).</b>	Alto contenido de calcio.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 240 mg/100 g).	Contribuye: - a la coagulación sanguínea y metabolismo energético normal - al funcionamiento de músculos, neurotransmisión y enzimas digestivas - al proceso de división y diferenciación de las células Es necesario para el mantenimiento de huesos y dientes
<b>Cobre (Cu) (0,2 mg/100g).</b>	Fuente de cobre.	Si contiene como mínimo una cantidad significativa tal como se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 0,15 mg/100 g).	Contribuye: - al funcionamiento normal del sistema nervioso e inmunitario - a la pigmentación normal del cabello y piel - al transporte normal de hierro en el organismo - al metabolismo energético normal y protección de células frente al daño oxidativo



<b>Fósforo (P)</b> <b>(1067 mg/100g).</b>	Alto contenido de fósforo.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 210 mg/100 g).	Contribuye al: - metabolismo energético y funcionamiento de las membranas celulares - al mantenimiento de los huesos y dientes en condiciones normales
<b>Hierro (Fe)</b> <b>(16,4 mg/100g).</b>	Alto contenido de hierro.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 4,2 mg/100 g).	Contribuye: - al metabolismo energético y función cognitiva normal - a la formación normal de glóbulos rojos y hemoglobina - al transporte de oxígeno y funcionamiento del sistema inmunitario - al proceso de división celular Ayuda a disminuir el cansancio y la fatiga
<b>Magnesio (Mg)</b> <b>(390 mg/100g).</b>	Alto contenido de magnesio.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 112,5 mg/100 g).	Contribuye: - al equilibrio electrolítico y metabolismo energético normal - al funcionamiento normal de músculos y sistema nervioso - a la función psicológica normal - a la síntesis proteica y al proceso de división celular - al mantenimiento de huesos y dientes en condiciones normales Ayuda a disminuir el cansancio y la fatiga
<b>Manganeso (Mn)</b> <b>(2,3 mg/100g).</b>	Alto contenido de manganeso.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 0,6 mg/100 g).	Contribuye: - al metabolismo energético normal - al mantenimiento de huesos en condiciones normales - a la formación normal del tejido conectivo - a la protección de las células frente al daño oxidativo
<b>Potasio (K)</b> <b>(660-809 mg/100g).</b>	Alto contenido de potasio.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 600 mg/100 g).	Contribuye al: - funcionamiento normal del sistema nervioso y músculos - al mantenimiento de la tensión arterial normal
<b>Zinc(Zn)</b> <b>(3,7 mg/100g).</b>	Alto contenido de zinc.	Si contiene como mínimo dos veces el valor de la “fuente de”, cantidad que se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 3 mg/100 g).	Contribuye: - al equilibrio ácido-base y función cognitiva normal - al metabolismo normal de macronutrientes, vitamina A - al mantenimiento de la visión, niveles normales de testosterona - a la síntesis normal de ADN y proteínas, fertilidad y reproducción - al mantenimiento de huesos, cabello, uñas y piel - al funcionamiento normal del sistema inmunitario - a la protección de las células frente al daño oxidativo, al proceso de división celular

▪ *Aspectos tecnológicos*

Las propiedades tecnológicas de la semilla de chía podrían ser de gran interés en la industria alimentaria. Las proteínas de chía por un lado presentan interesantes propiedades emulsionantes, gelificantes y ligantes de agua y grasa (Coorey, et al., 2014; Olivos-Lugo, et al., 2010; Valdivia-López y Tecante, 2015). Por otro lado, pueden formar films con propiedades texturales adecuadas y alta permeabilidad al oxígeno (Dick, et al., 2015; Dick, et al., 2016; Hernández-Jardón, 2007). Además, se ha observado que hidrolizados de proteínas de chía presentan propiedades antioxidantes (Segura-Campos, et al., 2013). A su fibra dietética soluble (mucílago), se le han atribuido también propiedades espesantes (Muñoz, et al., 2012; Segura-Campos, et al., 2014), y emulsionantes (Timilsena, et al., 2015; Valdivia-López y Tecante, 2015). En tal sentido, algunos autores han aprovechado las propiedades de algunos de los componentes de la chía (contenido proteico y mucílago) para mejorar la estabilidad de emulsiones O/W (Capitani, et al., 2016; Julio, et al., 2016). Guiotto, et al. (2016), de forma particular, observaron que la presencia de mucílago (0,75 % w/w) en emulsiones O/W tenía un efecto positivo sobre su estabilidad durante la conservación en refrigeración ( $4 \pm 1$  °C), comportamiento atribuido a su capacidad para reducir la movilidad de las gotas de aceite gracias a la formación de una red tridimensional.

▪ *Chía como alimento*

Existen evidencias que demuestran que la semilla de chía fue uno de los principales componentes de la dieta de los aztecas y que además fue utilizada como materia prima para la elaboración de medicinas, pinturas, así como en ofrendas a los dioses durante sus ceremonias religiosas (Ixtaina, 2010; Ullah, et al., 2016). A pesar de las ventajas que ofrecía el cultivo de la chía, con la colonización española éste fue prácticamente erradicado, sobreviviendo tan solo en áreas reducidas de Méjico (Ixtaina, 2010).

La chía se comenzó a comercializar fuera de Méjico después del año 1965. Hasta entonces, su empleo podía reducirse a la elaboración de la “chía fresca”, bebida similar a la limonada (Ixtaina, 2010). La comercialización en el mercado comunitario de semillas de chía y semillas de chía trituradas (Figura 1.9) quedó autorizada para ser utilizadas como nuevo ingrediente alimentario en productos de panadería con un contenido máximo de semillas del 5 % (Comisión Europea, 1997, 2009a). En el 2013, en Europa se autorizó una extensión de los usos de las semillas de chía pudiéndose incorporar en productos de panadería, cereales de desayuno y mezclas de frutas, frutos secos y semillas en cantidades



inferiores al 10 %. Además se permite la venta de semillas preenvasadas, recomendando un consumo inferior de 15 g semilla/día (Comisión Europea, 2013a). Posteriormente, en el año 2014 se autoriza la comercialización de aceite de chía extraído de la semilla empleando diversos procedimientos (Comisión Europea, 2014a).



**Figura 1.9.** Envases de chía en forma de semilla (a) y en polvo (harina) (b).

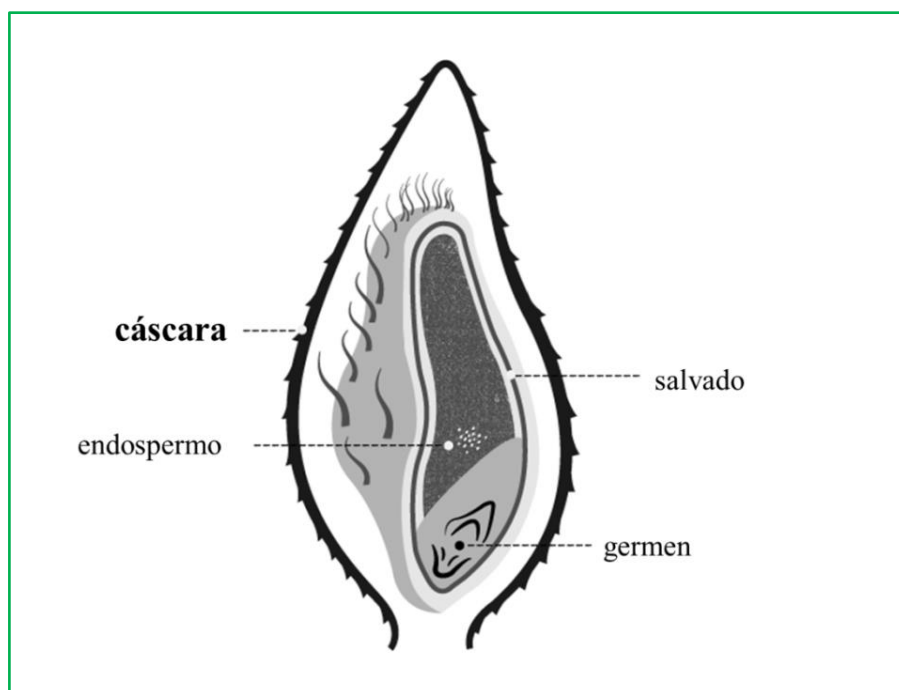
En general, el consumo directo de chía en forma de semillas o harina (Figura 1.9) está ampliamente extendido en centro América y Sudamérica, aunque actualmente, por las ventajas nutricionales que aporta, es cada vez más frecuente encontrarla en supermercados europeos, por ejemplo. Una de las principales aplicaciones en la industria alimentaria ha sido en productos de panadería y repostería (pan, pasta, bollería, etc.) como sustituto de otros cereales (trigo, maíz, etc.) empleados habitualmente en la elaboración de este tipo de alimentos. Se obtienen productos con niveles de gluten muy bajos o nulos, un perfil nutricional mejorado (perfil lipídico con alto contenido de AGP omega-3, fibra, etc.) y propiedades sensoriales adecuadas (Costantini, et al., 2014; Hruskova y Svec, 2015; Iglesias-Puig y Haros, 2013; Oliveira, et al., 2015; Pizarro, et al., 2015; Steffolani, et al., 2014; Verdu, et al., 2015). Con el objetivo de mejorar propiedades reológicas de pan, también se ha utilizado la chía en forma de gel, constituido a partir de harina de chía hidratada (Zettel, et al., 2015). Particularmente, el mucílago extraído de las semillas de chía se ha empleado como estabilizador de textura en helados (Campos, et al., 2016), como material para elaborar films comestibles (Dick, et al., 2015), como sustituto de grasa y huevo en productos de pastelería (Borneo, et al., 2010; Felisberto, et al., 2015) o como agente emulsionante (Guiotto, et al., 2016) entre otras aplicaciones. Por otro lado, el aceite

de chía se ha empleado como sustituto de grasa animal en la elaboración de chocolate mejorando así su perfil de ácidos grasos (Rodrigues, et al., 2015).

En relación con el desarrollo de productos cárnicos más saludables, la chía se ha utilizado principalmente en alimentación animal, consiguiendo mejorar el perfil nutricional de las canales, en especial en lo relativo a su contenido de ALA (Coates y Ayerza, 2009; Meineri, et al., 2010; Peiretti y Meineri, 2008; Salazar-Vega, et al., 2009; Silva, et al., 2014). A nivel de reformulación de productos, su uso ha sido limitado. Marin-Flores, et al. (2008) patentaron un método para elaborar productos cárnicos con un perfil nutricional mejorado incorporando semillas de chía. Este proceso de reformulación aumentó los niveles de fibra, proteína y ácidos grasos n-6 y n-3. A su vez se puso de manifiesto que los nuevos derivados reformulados con chía necesitaron menor tiempo de cocinado que los elaborados con grasa animal. Recientemente se ha estudiado la adición directa de harina de chía o subproductos obtenidos de la extracción del aceite de la semilla, a derivados cárnicos (hamburguesas y salchichas frescas), consiguiendo una mejora de su perfil nutricional manteniendo propiedades organolépticas aceptables (Scapin, et al., 2015; Souza, et al., 2015a).

- Avena

La avena es un cereal originario de la zona Mediterránea y Oriente Medio, que griegos y romanos (~23 - 79 DC) ya cultivaban para su propia alimentación, con aplicaciones medicinales y también como alimento para animales (Zwer, 2004). Es una planta herbácea anual que pertenece a la familia *Graminaceae*; siendo *Avena sativa* L. la más común de las 12 especies o subespecies descritas (Arendt y Zannini, 2013). El fruto de la avena es una cariósida cubierta por una cáscara (Figura 1.10) que representa el 30-40 % del peso total del grano y que principalmente está constituido por celulosa y hemicelulosa (Welch, 1995). La cariósida, más alargada y delgada que la del trigo o cebada, se compone de tres partes cuya proporción depende de la variedad y condiciones ambientales del cultivo: salvado (38 - 40 %), endospermo (58 - 60 %) y germen (3 %) (Lasztity, 1998) (Figura 1.10).



**Figura 1.10.** Fruto de la avena (www.oatly.com, 2017)

▪ *Aspectos nutricionales*

La avena se caracteriza por ser fuente proteica de bajo coste, determinada tanto por el alto contenido de proteínas (Tabla 1.5) como por la calidad de las mismas (rica en aminoácidos esenciales) (Rasane, et al., 2015). Presenta una cantidad de lisina superior al de otros cereales aunque su proporción de glutamina y prolina es menor (Arendt y Zannini, 2013). Además, debido a la baja concentración de prolaminas que contiene, que depende de la variedad, diversos estudios han demostrado su inocuidad en celíacos (Janatuinen, et al., 2002; Janatuinen, et al., 1995; Malalgoda y Simsek, 2017; Storsrud, et al., 2003), permitiéndose incluir este cereal (siempre que no esté contaminado con otros cereales) en sus dietas (Comisión Europea, 2009b). No obstante, se ha observado que algunos pacientes celíacos presentaron intolerancia a su consumo, de ahí la necesidad de revisar el grado de tolerancia antes de incluirla en sus dietas (Malalgoda y Simsek, 2017; Silano, et al., 2007).

La fracción lipídica (4 - 10 %) (Tabla 1.5), localizada principalmente en el endospermo y salvado, es mayor que la de otros cereales consumidos más habitualmente. En su perfil de ácidos grasos predomina la presencia de palmítico, oleico, esteárico y linoleico (> 95 %). Es por ello que ésta se considera una buena fuente de energía y ácidos grasos (Arendt y Zannini, 2013).

En la avena los carbohidratos son los elementos mayoritarios (Tabla 1.5), con importante nivel de fibra dietética (20 – 38 %), principalmente soluble en forma de  $\beta$ -

glucanos. Estos últimos, pueden considerarse elementos clave en la mayor parte de los beneficios asociados al consumo de avena, entre los que se encuentran el efecto saciante, la regulación de los niveles de glucosa en sangre y la reducción de colesterol sérico (Arendt, 2013; Butt, et al., 2008; Clemens y van Klinken, 2014). En base a estas propiedades, la EFSA (Comisión Europea, 2006, 2012a) establece las siguientes declaraciones de propiedades saludables:

-“El  $\beta$ -glucano de avena disminuye/reduce el colesterol sanguíneo. Una tasa elevada de colesterol constituye un factor de riesgo en el desarrollo de cardiopatías coronarias” para alimentos que contienen al menos 1 g de  $\beta$ -glucano de avena por porción cuantificada

-“El consumo de  $\beta$ -glucanos procedentes de avena o cebada en una comida contribuye a reducir la subida de glucosa en sangre después de comer” para alimentos que contienen un mínimo de 4 g de  $\beta$ -glucanos procedentes de avena o cebada por cada 30 g de hidratos de carbono presentes en una porción cuantificada como parte de la comida.

Además la FDA, también reconoce la relación positiva entre el consumo de fibra soluble y un descenso de colesterol sérico permitiendo declaraciones saludables relacionadas con el consumo de avena (FDA, 1997).

**Tabla 1.5.** Composición (%) del grano y salvado de avena (Arendt y Zannini, 2013)

	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos	Fibra	Cenizas
<b>Grano de avena</b>	8,7-16	39-55	4,5-7,2	20-38	2,1-3,6
<b>Salvado de avena</b>	18,1	44,6	9,6	15,4	3,1

Otros elementos que contiene en menor proporción son minerales como el magnesio (171 mg/100 g), hierro (6,4 mg/100 g), cobre (0,17 mg/100 g) y potasio (441 mg/100 g) (Arendt y Zannini, 2013). En relación a las vitaminas destaca la concentración de tiamina, niacina y ácido pantoténico (1,95, 1,3 y 0,46 mg/100 g, respectivamente) proporcionalmente elevada en relación a otros cereales. En el salvado además, hay que destacar la presencia de vitamina E (4,90 mg/100 g) (Arendt y Zannini, 2013). Por otro lado, cobra interés la presencia de avenantramidas, fenoles solubles localizados principalmente en el salvado en concentraciones de 300 ppm, que contribuyen al efecto antioxidante atribuido a la avena (Arendt y Zannini, 2013; Marlett, 1993). Las avenantramidas han sido relacionadas con la reducción del riesgo de padecer algún tipo de cáncer, ECV o dermatitis. Además, este tipo de fenoles (avenantramidas) son fermentados

por la flora microbiana presente en el intestino, dando lugar a metabolitos que regulan el pH del medio, modulan la absorción de nutrientes así como la síntesis de vitaminas (Clemens y van Klinken, 2014).

▪ *Aspectos tecnológicos*

La avena ha sido empleada en la elaboración de diferentes alimentos y son varios factores los que contribuyen a dotar a este producto de interesantes propiedades. En tal sentido, las proteínas de la avena presentan notable poder emulsionante y gelificante, capacidad de retener agua y grasa, etc. (Guan, et al., 2007; Laine, et al., 2011; Nieto-Nieto, et al., 2014; Souza, et al., 2015b; Zhang, et al., 2015). No obstante, en condiciones de pH neutro o ácido, su aptitud tecnológica se reduce considerablemente, formando geles más bien frágiles (Ma, 1985; Ma y Khanzada, 1987). Para evitar este problema o mejorar su función tecnológica se han ensayado distintas modificaciones físicas, químicas o enzimáticas. Así por ejemplo, la hidrólisis enzimática de las proteínas de avena permite mejorar su capacidad de emulsión y gelificación, propiedades ligantes de agua y grasa, capacidad espumante así como modular su funcionalidad según necesidades específicas (Guan, et al., 2007; Ma, 1985).

Los  $\beta$ -glucanos de la avena, homopolisacáridos lineales de residuos de D-glucopyranosyl unidos mediante enlaces  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  3) y  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  4), son elementos que también despiertan gran interés por sus excepcionales propiedades tecnológicas (Wood, et al., 1994). Su particular estructura química es la responsable de sus propiedades físico-químicas: solubilidad, viscosidad, poder gelificante y estabilizante de emulsiones, capacidad de retención de agua o poder antioxidante (Brummer, et al., 2014; Butt, et al., 2008; Lazaridou y Biliaderis, 2007; Liu, et al., 2015b; Shen, et al., 2015; Souza, et al., 2015b). Son elementos que juegan un papel fundamental en la viscosidad, incluso a bajas concentraciones (< 0,3 %) (Luharoo, et al., 1998), sin presentar sensibilidad a cambios de pH (rango 2 - 10) o fuerza iónica (Arendt, 2013; Butt, et al., 2008; Wood, et al., 1994). Su mecanismo de gelificación está basado en la formación de puentes de hidrógeno entre unidades consecutivas de  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  3) de diferentes moléculas, dando lugar a una estructura ordenada capaz de retener agua en su interior (Brummer, et al., 2014; Doublier y Wood, 1995). La velocidad de formación del gel es mayor con  $\beta$ -glucanos de menor peso molecular o aumentando su concentración (Böhm y Kulicke, 1999). Además, otros factores como el tipo o peso molecular de las cadenas poliméricas de  $\beta$ -glucanos, condiciones de conservación, etc., influyen en las propiedades del gel formado (Banchathanakij y

Supphantharika, 2009). La elasticidad de gel, por ejemplo, se puede condicionar por la presencia de moléculas de  $\beta$ -glucanos de bajo peso molecular (Lazaridou, et al., 2003). El predominio de moléculas de elevado peso molecular, sin embargo, da lugar a geles más duros y resistentes (Böhm y Kulicke, 1999; Lazaridou, et al., 2003).

▪ *Avena como alimento*

Actualmente, entre el 50 y 90 % de su producción es destinada a la alimentación del ganado, aunque cada vez es más relevante la cantidad dedicada a alimentación humana por sus beneficios en relación a la salud (Arendt y Zannini, 2013). Este cereal, por otro lado ha estado presente en la dieta europea desde el siglo I en forma de gachas o panes (Welch, 1995). A mitad de los años ochenta fue reconocido como alimento saludable (Butt, et al., 2008) ya que su consumo se asoció a una reducción del riesgo de padecer determinadas enfermedades (diabetes, ECV, obesidad y algunos tipos de cáncer) (Clemens y van Klinken, 2014). Uno de los subproductos de la avena más empleado en alimentación es el salvado, que corresponde a la capa comestible más externa del grano de avena (Figura 1.10). Es un producto derivado de la fabricación de harina, obtenido de granos cribados de avena descascarillada, constituido principalmente por fragmentos de envolturas y por partículas de grano del que se ha eliminado la mayor parte del endospermo (Butt, et al., 2008).

A pesar de las ventajas descritas de la avena, su presencia en alimentación no está tan extendida como la de otros cereales (trigo, arroz, maíz, etc.). Se ha empleado generalmente en sustitución de otros cereales, como el trigo, buscando productos aptos para dietas de celíacos. Su uso más extendido ha sido en productos de panadería y repostería (Duta y Culetu, 2015; Ronda, et al., 2015), diferentes tipos de pasta (Hager, et al., 2013; Pilli, et al., 2013), en cereales de desayuno (Ryan, et al., 2011), bebidas (Angelov, et al., 2006; Gupta, et al., 2010), así como incorporada en productos derivados de la pesca (Alakhrash, et al., 2016; Braren y Gormley, 1998; Che Rohani, et al., 2010), y en productos cárnicos (Tabla 1.6) (Jiménez-Colmenero y Delgado-Pando, 2013), entre otros.

**Tabla 1.6.** Reformulación de productos cárnicos con avena. Adaptada de Jiménez-Colmenero y Delgado-Pando (2013)

Partes de la avena	Forma de empleo	Producto cárnico	Propiedades por las que se incorpora	Consecuencias en el producto	Referencias
<b>Fibra</b>	1,5, 3,5 o 4,5 %. Adición directa	Hamburguesa de vacuno	Prop. ligantes de agua y grasa	Mayor rendimiento durante cocinado que supone la reducción de costes. Cantidades 3,5 y 4,5 % de fibra en producto aumentó el tiempo necesario para su cocinado. Aumento de los valores de textura	(Ball, et al., 2016)
<b>Fibra soluble (Nutrim-10<sup>®</sup>)</b>	13,45 % (en forma de gel) como sustituto de grasa animal	Hamburguesa de vacuno	Prop. gelificantes Prop. ligantes de agua y grasa	Menores pérdidas durante su cocinado que hicieron que el producto mantuviera una aceptación sensorial adecuada.	(Pinero, et al., 2008)
<b>Fibra hidratada (VITACEL HF)</b>	7,5 o 10 % (hidratada en proporción 1:5) como sustituto de grasa animal.	Salchicha tipo emulsión de cerdo	Prop. gelificantes	Cambios en la textura Productos valorados sensorialmente de forma análoga al control	(Szczepaniak, et al., 2005)
<b>Fibra</b>	3,5 o 7 %. Adición directa.	Salchicha curada de cerdo	Prop. ligantes de agua y grasa Aumentar proporción de fibra en el producto	Alegar la declaración nutricional “fuente de fibra” Valores mayores en los parámetros de textura Mejor valoración sensorial que el control	(Huang, et al., 2011)
<b>Fibra blanqueada Fibra de alta absorción</b>	1; 2 o 3 % (de cada tipo de fibra para cada producto citado) 7 lotes/producto.	Salchichas cocidas tipo gel emulsión (pollo, pavo, cerdo y vacuno)	Hidratación Prop. ligantes de agua Prop. emulsionante	Mayor dureza Mejoras en los atributos sensoriales Mayor rendimiento en tratamiento térmico Producto más claro y menor tendencia al rojo	(Steenblock, et al., 2001)
<b>Fibra</b>	0,4, 1, 1,6 o 2 % (combinado con almidón y proteína de suero lácteo)	Hamburguesa de vacuno con bajo contenido en grasa	Prop. ligantes de agua	Producto más jugoso, sensorialmente aceptado	(Desmond, et al., 1998a, b)
<b>Fibra</b>	2 % Adición directa.	Salchicha tipo frankfurt de cerdo	Prop. ligantes de agua Prop. emulsionante	Atenúan cambios producidos al sustituir grasa por agua Atributos sensoriales aceptables	(Hughes, et al., 1997)
<b>Harina hidratada</b>	10 15 o 25 %	Salchicha fresca de cerdo	Prop. ligantes de agua y grasa	Productos más blandos Menores pérdidas durante cocinado	(Yang, et al., 2007)

<b>Harina</b>	2 o 4 %. Adición directa	Hamburguesas de vacuno	Prop. ligantes de agua y grasa	Variaciones en las propiedades del producto tras el cocinado sin detrimento de atributos sensoriales Mayor rendimiento en el cocinado Mayor tendencia al amarillo	(Serdaroglu, 2006)
<b>Harina hidratada</b>	0 o 10 % la hidratación (1:2,3). Uso como sustituto de grasa.	Salchichas frescas bajas en grasa (vacuno, pollo o cerdo).	Prop. ligantes de agua y aceite Hidratación	Reducción nivel proteico y de grasa Mayor rendimiento en el cocinado Disminución de dureza Mayor aceptación sensorial del producto (más jugosas)	(Yang, et al., 2010)
<b>Harina</b>	8 % como sustituto de grasa (ensayos previos descartaron niveles mayores de harina)	<i>Kofka de pollo</i> (producto tipo hamburguesa)	Prop. ligantes de agua Poder antioxidante	Mayor capacidad ligante de agua y grasa. Reducción de procesos de oxidación Atributos sensoriales aceptables	(Prasad, et al., 2011)
<b>Harina</b>	8 % como sustituto de grasa junto con carragenato (0,5; 1 o 1,5 %).	<i>Kofka de cordero</i> (producto tipo hamburguesa)	Prop. ligantes de agua Poder antioxidante	Menor absorción de grasa durante la fritura Atributos sensoriales aceptables Hasta 6 semanas de vida útil	(Modi, et al., 2009a; Modi, et al., 2009b)
<b>Harina</b>	0; 10 o 20 %. Adición directa	Nuggets de pollo (prod. cocido tipo emulsión) con bajo contenido en grasa	Prop. ligantes de agua y grasa Prop. emulsionante	Mayor rendimiento durante cocinado. Producto más jugoso	(Santhi y Kalaikannan, 2014)
<b>Salvado</b>	1,5 o 3 % dos niveles de grasa (6 y 10 %). Adición directa	Salchicha fermentada	Bajo poder calórico	Reducción del valor energético Atributos sensoriales aceptables	(García, et al., 2002)
<b>Salvado</b>	5, 10, 15 o 20 % utilizado como sustituto de grasa. Adición directa	Albóndigas de vacuno (prod. fresco)	Prop. ligantes de agua Perfil nutricional saludable	Mejoras en el perfil lipídico Atributos sensoriales aceptables Producto más claro y mayor tendencia al amarillo	(Yilmaz y Daglioglu, 2003)
<b>Salvado</b>	5, 10 o 15 % para formar emulsión cárnica. Adición directa	Producto cocido tipo emulsión de pollo	Prop. ligantes de agua y grasa Prop. Emulsionante	Aumento del contenido de fibra Mayor rendimiento durante cocinado Mayor capacidad ligante de agua Mayor estabilidad de emulsión	(Talukder y Sharma, 2010)



<b>Salvado empapado (agua/aceite) y en forma de espuma</b>	5 g (0,4 %) [empapada en agua (15 ml) o aceite (8 ml)] 20, 30 o 40 g (1,7, 2,5 y 3,3 %) en forma de espuma	Hamburguesa de vacuno	Prop. ligantes de agua y aceite Prop. espumantes	Mejora propiedades tecnológicas, nutricionales y sensoriales	(Angiolillo, et al., 2015)
<b>LeanMaker™ (salvado)</b>	6 % en cada producto como sustituto de grasa. Adición directa	Hamburguesas de vacuno Salchicha de cerdo	Hidratación Palatabilidad	Mayor rendimiento durante cocinado Atributos sensoriales aceptables	(Pszczola, 1991)
<b>Copos de avena hidratados</b>	10, 20 o 30% de avena hidratada (1:2,2) y tto. microondas 0, 2 y 4 min.	Salchicha fresca de cerdo (tipo Italiana)		Mayor pérdida durante cocinado Producto más blando Pre-tratamiento térmico de la avena mejora su función tecnológica	(Kerr, et al., 2005)
<b>Goma de avena y Oatrim®</b>	0,5, 1 o 2 % Se añaden hidratadas:	Hamburguesas de cabrito y/o conejo	Prop. ligantes de agua Estabilizante	Disminuyen valores de textura Atributos sensoriales aceptables	(Dawkins, et al., 2001)
<b>β-glucanos de avena</b>	Diferentes combinaciones con almidón Adición directa	Salchicha prebiótica (vacuno)	Prop. ligantes de agua y grasa Efecto prebiótico	Producto prebiótico Mayor rendimiento durante cocinado Atributos sensoriales aceptables	(Amini Sarteshnizi, et al., 2015)
<b>β-glucanos de avena e hidrolizados de β-glucanos</b>	0,6 % (β-glucanos) o 0,6 % (hidrolizado de β-glucanos). Adición directa	Albóndigas (prod. cocido tipo emulsión)	Prop. ligantes de agua	Mayor contenido de fibra Menores pérdidas durante conservación Atributos sensoriales aceptables	(Liu, et al., 2015a)
<b>β-glucanos de avena en forma de gel</b>	15, 30 o 60 % de gel (21,41g:100 ml agua) Diferentes mezclas con inulina en polvo (IP) y gel (IG)	Modelo cárnico cocido tipo emulsión	Prop. ligantes de agua Hidratación Poder gelificante Prop. emulsionante	Mejor combinación 3 % IG-0,3 % β-glucanos y 6 % IG-0,6 % β-glucanos. Mejora atributos de textura Mayor pérdida durante cocinado cuando se usa β-glucanos de forma separada	(Álvarez y Barbut, 2013)
<b>Concentrado de β-glucano de avena</b>	0,3 % como sustituto de NaCl. Adición directa	Carne picada de pollo tratada con alta presión	Hidratación Poder antioxidante	Efecto antioxidante. Permite reducir 60 % de NaCl.	(Omana, et al., 2011a, b)

En particular, el empleo de avena en la elaboración de derivados cárnicos ha variado tanto en función del tipo de productos como del fin tecnológico que se pretenda conseguir (Tabla 1.6). Su incorporación en el producto se ha ensayado en forma de harina, salvado, fibra total o soluble aislada en forma de  $\beta$ -glucanos (Tabla 1.6). En general, independientemente de la forma de utilización, se ha ensayado su incorporación en derivados cárnicos formulados con un contenido de grasa reducido aprovechando su capacidad para ligar agua y grasa (Tabla 1.6). La reformulación de estos productos, empleando avena como sustituto de grasa, hizo que éstos sufrieran menores pérdidas durante tratamientos térmicos (Pszczola, 1991; Santhi y Kalaikannan, 2014; Serdaroglu, 2006; Yang, et al., 2007; Yang, et al., 2010). En tal sentido, se obtuvieron derivados cárnicos con niveles adecuados de humedad favoreciendo así unos atributos organolépticos (jugosidad, sabor, textura, etc.) aceptables (Desmond, et al., 1998a, b; Hughes, et al., 1997; Steenblock, et al., 2001; Yang, et al., 2007; Yang, et al., 2010). En relación a su capacidad emulsionante, la avena se ha usado en derivados cárnicos tipo gel/emulsión mejorando su estabilidad frente a tratamientos térmicos o durante la conservación (Tabla 1.6), principalmente en aquellos formulados con un bajo contenido de grasa (Hughes, et al., 1997; Santhi y Kalaikannan, 2014; Steenblock, et al., 2001; Talukder y Sharma, 2010). Aprovechando su capacidad gelificante, se han elaborado preparados comerciales a modo de sustitutos de grasa animal, adecuados para su empleo en la reformulación de productos cárnicos más saludables. Algunos ejemplos como Nutrim-10<sup>®</sup>, VITACEL HF han sido empleados en el desarrollo de productos cárnicos frescos o tipo emulsión con propiedades tecnológicas y organolépticas similares a las de productos control (Tabla 1.6) (Pinero, et al., 2008; Szczepaniak, et al., 2005). Su presencia ayuda a limitar la cantidad de aceite que productos tipo hamburguesa (*kofka*) absorbían durante procesos de fritura, reduciendo así su poder calórico (Tabla 1.6) (Modi, et al., 2009a). La actividad antioxidante atribuida a las avenantramidas contribuye a retrasar el proceso de oxidación lipídica en algunos derivados cárnicos (Tabla 1.6) (Modi, et al., 2009a; Omana, et al., 2011a; Prasad, et al., 2011).

#### *1.3.5.2 Gelificación en frío en la formación de emulsiones gelificadas*

Tradicionalmente, la gelificación térmica ha ocupado un papel muy destacado en el procesado de alimentos. Sin embargo, algunos de los componentes de las EG (ácidos grasos insaturados, vitaminas, etc.) pueden experimentar fenómenos de deterioro

durante las distintas etapas de este calentamiento que podrían paliarse mediante gelificación en frío.

- Transglutaminasa de origen microbiano (MTG)

Las transglutaminasas son enzimas que catalizan uniones intermoleculares de proteínas que afectan alguna de sus propiedades, como la capacidad de gelificación, estabilidad térmica o capacidad de retención de agua (Kuraishi, et al., 2001). Básicamente, pueden modificar las proteínas mediante tres modalidades reactivas, acilación, generación de enlaces interaminoacídicos (glutamina-lisina) y desaminación. Durante décadas la única transglutaminasa que se comercializaba era de origen animal pero su proceso de separación y purificación era muy tedioso y la enzima tenía un precio muy elevado (Kurth y Rogers, 1984; Motoki y Nio, 1983). Además estas enzimas son dependientes de  $\text{Ca}^{+2}$  para poder realizar su actividad catalítica. La obtención de esta enzima (*Streptomyces* sp. y *Streptoverticillum* sp.) permitió una producción rentable y supuso un gran avance para su potencial empleo en la industria farmacéutica, alimentaria, etc. De todas las especies ensayadas, *Streptomyces mobaraensis* es la más frecuentemente empleada (Ando, et al., 1989). Ajinomoto Co., Inc. (Tokio, Japón) fue la primera empresa que comercializó MTG con fines alimentarios bajo el nombre comercial de “ACTIVA<sup>®</sup> Transglutaminase”. La MTG es estable en un amplio rango de pH (4 - 9) aunque su óptimo está entre 6 - 7. La temperatura ideal de actividad se encuentra entre 45 - 50 °C aunque la presencia de ciertas proteínas como el caseinato sódico permite su gelificación en frío. El empleo de esta enzima en la elaboración de alimentos se rige por el Reglamento (CE) n° 1332/2008, de aplicación para enzimas utilizadas con fines tecnológicos en la fabricación, transformación, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento de alimentos (Comisión Europea, 2008b).

Nio, et al. (1985) fueron pioneros en conseguir la gelificación de proteínas en alimentos mediante el empleo de MTG. Más tarde, se ensayaron procesos para inducir la gelificación de emulsiones estabilizadas con proteína de soja aislada (Nio, et al., 1986). Recientemente, algunos autores han evaluado las consecuencias de adicionar la MTG antes o después de la formación de las emulsiones estabilizadas con proteína aislada de soja (Tang, et al., 2013; Yang, et al., 2013). Los resultados mostraron que la presencia de la enzima previamente al proceso de emulsificación daba lugar a EG más rígidas, precisando además menor cantidad de enzima. Otros ensayos han puesto de

manifiesto que al aumentar progresivamente la fracción lipídica (aceite de soja), las EG elaboradas con proteína de soja aislada, adquirirían una estructura más rígida y mayor capacidad ligante de agua y grasa que las obtenidas mediante tratamiento térmico (Tang, et al., 2013). También se ha ensayado el empleo de MTG para gelificar emulsiones estabilizadas con otros tipos de fuentes proteicas como caseinato sódico (Delgado-Pando, et al., 2010b). Además se ha estudiado qué posibilidades ofrecía la MTG en la elaboración EG empleadas como vehículo de compuestos bioactivos liposolubles (Yang, et al., 2013).

El empleo de la MTG en el desarrollo de alimentos ha sido principalmente en sistemas tipo emulsión y/o gel (cárnicos, lácteos, etc.), abriendo nuevas posibilidades para condicionar su textura (Dickinson y Yamamoto, 1996). En particular, en derivados cárnicos su aplicación se ha centrado en la elaboración de restructurados (Carballo, et al., 2006; Cofrades, et al., 2011b; Romero de Ávila, et al., 2010; Sadeghi-Mehr, et al., 2016; Santhi, et al., 2017; Serrano, et al., 2004). De igual modo, la MTG se ha utilizado para elaborar EG de proteína aislada de soja o caseinato y una mezcla de aceites (lino, pescado, oliva) que posteriormente se han empleado como sustitutos de grasa animal en la preparación de productos cárnicos cocidos (Delgado-Pando, et al., 2010a; Herrero, et al., 2011a; Herrero, et al., 2011b).

- Alginato

El alginato es un polisacárido lineal formado por unidades monoméricas de ácido  $\beta$ -D-manurónico (M) y ácido  $\alpha$ -L-Gulurónico (G) en distintas proporciones. Dependiendo de su origen (algas pardas principalmente) se agrupan formando bloques de M-residual (MM), de G-residual (GG) o mezcla de ambos (MG); esta distribución determina las características individuales del compuesto que se obtenga. Entre las propiedades del alginato destaca su capacidad para formar geles en presencia de iones calcio. Los bloques-MM y bloques-MG no participan en las zonas de unión, sino que forman los llamados segmentos elásticos en la red del gel. El conjunto constituye lo que se ha denominado como modelo “caja de huevos” (Grant, et al., 1973). El alginato a diferencia de otros polisacáridos, presenta la ventaja de ser capaz de gelificar en frío (0 – 4 °C). Las características de estos geles vendrán determinadas fundamentalmente por la estructura que presenten. En tal sentido, un predominio de bloques distribuidos en la forma MG dará lugar a geles más flexibles y solubles a pH ácidos. Por otro lado, se obtendrán geles más rígidos pero también más frágiles si en la estructura predominan

los bloques GG (Ertesvåg y Valla, 1998; Gacesa, 1988). La gelificación tiene lugar al producirse una zona de unión entre un bloque-G de una molécula de alginato que se enlaza físicamente a otro bloque-G contenido en otra molécula de alginato a través del ion calcio, formando una configuración espacial tipo bucle en cuyas cavidades se acomodan los cationes divalentes. Además los geles obtenidos son termoestables permitiendo que puedan someterse a temperaturas de hasta 100 °C. Su pH óptimo está entre 3,5 y 5 para la formación de geles (Moreno Conde, 2009). Otra de las ventajas del alginato es su capacidad para estabilizar emulsiones formando una cobertura entre las dos fases, evitando así fenómenos de floculación (Huang, et al., 2001). Además, es interesante destacar su poder espesante y capacidad para formar películas (Gacesa, 1988; Junter y Vinet, 2009).

En base a todas las propiedades descritas, el alginato ha sido considerado uno de los biopolímeros más versátiles y por ello más empleado en la industria de alimentos, en particular en la forma de alginato sódico (E-401). Así por ejemplo, se han formado EG a partir de nanoemulsiones de aceite de citronela en soluciones de alginato sódico que contenían Tween 80 como surfactante (Salvia-Trujillo, et al., 2013). Otros autores han estudiado el uso de alginato de forma aislada o junto con otros ingredientes (gelatina) a fin de comparar y determinar las propiedades de la EG obtenida (Sato, et al., 2014).

En la industria cárnica el empleo del alginato ha sido bastante limitado. Una de las principales aplicaciones se ha basado en crear materiales comestibles para envolver ciertos derivados cárnicos actuando como barrera protectora. En tal sentido, se ha empleado como ingrediente en la preparación de películas que además permiten la incorporación de antioxidantes que retrasan procesos de oxidación (Kristam, et al., 2016; Vital, et al., 2016) o envolturas que mejoren la calidad de los productos durante su conservación (Matiacevich, et al., 2015; Yu, et al., 2008). También se ha utilizado en tripas para embutidos (Comaposada, et al., 2015; Liu, et al., 2007). Además, el alginato se ha ensayado en la elaboración de restructurados cárnicos (Sadeghi-Mehr, et al., 2016). Saldana, et al. (2015) utilizaron el alginato con goma guar y aceites vegetales hidrogenados como sustitutos de grasa animal en la elaboración de mortadela. El uso de alginato y goma guar mejoró la textura. Adicionalmente, se elaboraron emulsiones de aceite oliva (30 %) y alginato (6 %) para sustituir el 50 % de la grasa animal en la elaboración de chorizo (Beriaín, et al., 2011). El alginato se ha utilizado en la elaboración de agentes de carga de aceite de oliva reemplazando la grasa animal en la

elaboración de productos cárnicos tipo gel/emulsión (Herrero, et al., 2014b; Ruiz-Capillas, et al., 2013).

- *Gelatina*

La gelatina es un compuesto soluble de naturaleza proteica, obtenido mediante una hidrólisis controlada del colágeno, principal proteína constituyente de huesos, piel y cartílagos. La calidad de la gelatina está determinada por sus propiedades físico-químicas que a su vez se relacionan con su composición en aminoácidos (dependiente de su origen) y distribución de pesos moleculares (dependiente principalmente de las condiciones de procesado) (Gómez-Guillén, et al., 2002). Aunque puede considerarse en sí misma un alimento de alta digestibilidad; su aplicación está más extendida como ingrediente tecnológico. En base a la facilidad con que la gelatina puede hidratarse presenta dos tipos de propiedades; las relacionadas con su poder gelificante (formación de geles, agente texturizante o espesante, capacidad para ligar agua, microencapsulación) y las relacionadas con su carácter anfifílico (poder emulsionante y capacidad para formar espumas o films, como agentes clarificantes, etc.) (Gómez-Guillén, et al., 2011; Karim y Bhat, 2008). Forma geles reversibles y su temperatura óptima de gelificación está en torno a 30 - 40 °C, aunque actualmente se han desarrollado gelatinas con capacidad para gelificar a temperaturas más bajas, sin necesidad de tener que someterse a tal tratamiento térmico.

Tanto gelatinas procedentes de mamíferos como de pescado, han sido descritas con una capacidad para estabilizar emulsiones similar a la de otro tipo de proteínas más comunes para tal fin (soja, caseinato o suero lácteo) (Dickinson y López, 2001; Gómez-Guillén, et al., 2011). En tal sentido, una de las aplicaciones de la gelatina (de cerdo) se ha centrado en el desarrollo de EG, observándose que cambios en la relación gelatina/aceite permitiría modificar la textura del sistema (Sala, et al., 2009). EG elaboradas con gelatina han sido empleadas como vehículo de diversos compuestos bioactivos que durante los procesos digestivos eran liberados con facilidad (Thakur, et al., 2012).

En relación al uso de la gelatina en la industria cárnica, se ha ensayado su adición directa en productos tipo emulsión con fines texturizantes (Jridi, et al., 2015; Sin-Young, et al., 2016). Otra de las aplicaciones, aprovechando la capacidad para ligar agua atribuida a la gelatina, ha sido su adición a derivados cárnicos mejorando su

rendimiento en procesos de congelación y tratamientos térmicos (Gómez-Guillén, et al., 2011).

#### *1.3.5.3 Aplicación de emulsiones gelificadas en el desarrollo de productos cárnicos.*

El empleo de emulsiones gelificadas comenzó a despertar interés a mitad de los años 1980s en la industria farmacéutica y de cosméticos como vehículo de principios activos por las ventajas que ofrecen respecto a otros procedimientos (Ajazuddin, et al., 2013). Entre ellas destaca su estabilidad, la facilidad que presentan para incorporar sustancias insolubles en agua utilizadas habitualmente en farmacología, elaboración sencilla y bajo coste, mayor control en la liberación del principio activo, etc (Ajazuddin, et al., 2013; Dev, et al., 2015; Singh, et al., 2016). En este campo el término empleado para referirse a EG es “emulgel”.

Las EG presentan interesantes propiedades estructurales de sólido, próximas a la de la grasa animal y su composición en ácidos grasos puede modularse en base a la selección del aceite que forme la fase lipídica (Jiménez-Colmenero, et al., 2015). Además, estos sistemas se han descrito con capacidad para proteger a lípidos muy lábiles (AGP n-3, por ejemplo), entre otros compuestos, frente al deterioro oxidativo favoreciendo además su disponibilidad (Chen, et al., 2013). Por otro lado, a nivel fisiológico, el consumo de lípidos a través de EG permite mayor control de su digestión, pudiendo tener cierto efecto en la selección de ácidos grasos o la cantidad de grasa que el organismo vaya a absorber (Guo, et al., 2016; Wooster, et al., 2014).

En la industria alimentaria, a pesar de las prometedoras expectativas que presentan las EG, no han sido muchas las aplicaciones practicadas hasta el momento (Dickinson, 2012). Así por ejemplo se ha ensayado la incorporación de EG en quesos (Calligaris, et al., 2015; Stratulat, et al., 2014), productos de confitería (Hadnadev, et al., 2014), galletas (Giarnetti, et al., 2015; Goldstein y Seetharaman, 2011), algunos derivados cárnicos (Alejandre, et al., 2016; Delgado-Pando, et al., 2010a; Poyato, et al., 2014; Poyato, et al., 2015; Serdaroğlu, et al., 2016a), etc. En particular, en salchichas tipo frankfurt se ha reemplazado grasa animal (100 %) por EG elaboradas con 52 % de una combinación de aceites de oliva, pescado y lino, empleando como agente gelificante MTG. Los resultados mostraron que dicha estrategia mejoró notablemente el perfil lipídico de los productos manteniendo sus propiedades tecnológicas, sensoriales y microbiológicas aceptables a lo largo de su conservación en refrigeración (Delgado-Pando, et al., 2010a; Delgado-Pando, et al., 2011). En salchichas tipo bologna

elaboradas con un 16 % de tocino se ensayó la sustitución de diferentes niveles (50 y 100 %) por EG de aceite de lino (40 %) y carragenato con el objetivo de mejorar el contenido lipídico de los productos (Poyato, et al., 2014). Este mismo tipo de EG fue utilizada para reemplazar grasa de cerdo en la elaboración de productos cárnicos fermentados con el objetivo de mejorar la proporción de ALA y la relación de ácidos grasos poliinsaturados n6/n-3 (Alejandre, et al., 2016). En productos cárnicos frescos tipo hamburguesa se emplearon EG de aceite de girasol (40 %) para sustituir de forma parcial y total su contenido de grasa animal, consiguiendo mejorar su contenido lipídico sin alterar sus propiedades tecnológicas (Poyato, et al., 2015). Otros autores (Serdaroğlu, et al., 2016a) han empleado EG formuladas con aceite de oliva (50 %), gelatina e inulina para sustituir un 30, 50 y 100 % de grasa animal (vacuno) en productos cárnicos cocidos tipo emulsión.

La mayor parte de los estudios realizados se han centrado en el empleo de EG en la reformulación de salchichas tipo frankfurt. Estos son productos de elevado consumo y uno de los ejemplos de producto cárnico tipo gel/emulsión en los que estos procedimientos son más sencillos de aplicar. Este tipo de derivados cárnicos consisten en una emulsión cárnica (pasta fina) gelificada por calor (tratamiento de pasteurización). La gelificación se produce por desnaturalización parcial de las proteínas y una posterior reorganización estructural favorecida por distintos tipos de interacciones que dan lugar a la formación de una malla proteica estabilizada por los enlaces. Estas mallas o redes pueden retener e inmovilizar agua y otros componentes del sistema, entre ellos grasa. Son productos de pequeño diámetro que generalmente son comercializadas en refrigeración (BOE, 2014).

Por otro lado, también existen algunos estudios en los que se han incorporado EG en productos cárnicos frescos fundamentalmente tipo hamburguesa (Poyato, et al., 2015). No obstante sería interesante ampliar estos ensayos en otro tipo de derivados cárnicos frescos muy demandados también por los consumidores como las salchichas tipo longaniza que son productos cárnicos frescos elaborados con carnes y grasa picada, generalmente de cerdo, y diferentes especias según la zona de elaboración o procedencia. Se embuten en tripas naturales de un diámetro entorno a los 2 cm. Según el Real Decreto 474/2014 (BOE, 2014) pertenecen al grupo de derivados cárnicos curado-madurados no tratados por calor, conjunto que integran los productos sometidos a un proceso de salazón y de curado-maduración, suficiente para conferirles las características organolépticas propias y de estabilidad a temperatura ambiente.



En base a todo lo descrito, se considera que las EG podrían ser una estrategia interesante, con su gran potencial para emplearse como sustitutos de grasa animal en el desarrollo de productos cárnicos. Por un lado, el empleo de aceites vegetales y la posibilidad de poder adicionarse en diferentes concentraciones para su formación, abre un abanico de posibilidades en relación a su contenido lipídico. Por otro lado, sería interesante estudiar las posibilidades que ofrecen diferentes agentes emulsionantes de origen vegetal como los descritos en el **capítulo 1.3.5.1**, así como de procesos de gelificación alternativos como los llevados a cabo en frío (**Capítulo 1.3.5.2**). Todo ello en base a sus propiedades tecnológicas y a la composición de los mismos, en relación a su contenido en compuestos con actividad biológica relacionada con beneficios para la salud. De este modo se podrían obtener materiales lipídicos en forma de EG con un perfil nutricional saludable y unas propiedades tecnológicas similares a la grasa animal, que empleadas en procesos de reformulación proporcionarían excepcionales oportunidades para potenciar la presencia de determinados compuestos con actividad biológica beneficiosa en productos cárnicos más saludables sin menoscabo de sus propiedades tecnológicas, sensoriales y de seguridad.

## **2. OBJETIVOS**



## 2. OBJETIVOS

Tomando en consideración los antecedentes mencionados a lo largo de la introducción de esta memoria, el **objetivo general** de esta Tesis Doctoral ha sido el **diseño y desarrollo de nuevas estrategias de reformulación basadas en la sustitución de la grasa animal por emulsiones estructuradas (gelificadas) como vehículo de diversos compuestos con implicaciones beneficiosas en la salud para su aplicación en la preparación de productos cárnicos más saludables y funcionales.**

En tal sentido se ha planteado mejorar la composición de los productos cárnicos en base a la sustitución de la grasa animal habitualmente empleada, por una combinación de aceite de oliva, e ingredientes vegetales tales como la chía (en forma de harina y semillas) y salvado de avena ricos en compuestos bioactivos, estructurados mediante el uso de agentes gelificantes capaces de actuar en frío (MTG, alginato y gelatina). Esta estrategia está dirigida a la obtención de nuevos materiales lipídicos (emulsiones gelificadas) con una composición saludable y estructura (sólida) similar a la de la grasa animal a la que se va a reemplazar. Adicionalmente, se pretende obtener derivados cárnicos con características próximas a las que muestran los productos convencionales de naturaleza similar, pero con un contenido lipídico mejorado en relación a un menor nivel de grasa y un perfil de ácidos grasos con menor proporción de AGS y mayor de AGM y AGP [AGP n-3 ( $\alpha$ -linolénico)], además de una relación AGP n-6/n-3 y AGP/AGS mejorada, así como con la presencia de fibra dietética (soluble e insoluble) y minerales (Ca, Mg, Mn, etc.). Tal planteamiento pretende además dotar a los productos cárnicos reformulados de diversas declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en el marco de la legislación europea (Reglamentos (CE) n° 1924/2006 y 432/2012).

Para abordar este objetivo general, se plantearon los siguientes **objetivos parciales**:

**1. Diseño, desarrollo y caracterización de las emulsiones gelificadas en función de variables de composición, procesado y conservación.** En el marco de este objetivo se plantea la formulación de emulsiones gelificadas empleando diferentes combinaciones de: **i)** aceite de oliva (mejora del contenido lipídico), **ii)** ingredientes fundamentalmente de origen vegetal (proteína aislada de soja, caseinato, harina de chía, semillas de chía, salvado de avena, etc.) que pueden favorecer la presencia de determinados compuestos beneficiosos para la salud (minerales, fibra, etc.) y **iii)**

diversos agentes gelificantes (MTG, alginato y gelatina) con capacidad para actuar en frío. El empleo de estos ingredientes vegetales y agentes gelificantes permitiría obtener matrices sólidas con características tecnológicas y de estabilidad adecuadas para ser empleados en la reformulación de derivados cárnicos. En este contexto resulta esencial su caracterización en relación a aspectos nutricionales, tecnológicos y estructurales. Además habría que valorar los posibles cambios producidos por efecto de los procesos de conservación (refrigeración y congelación) característicos de materias primas e ingredientes no cárnicos utilizados en la elaboración de productos cárnicos.

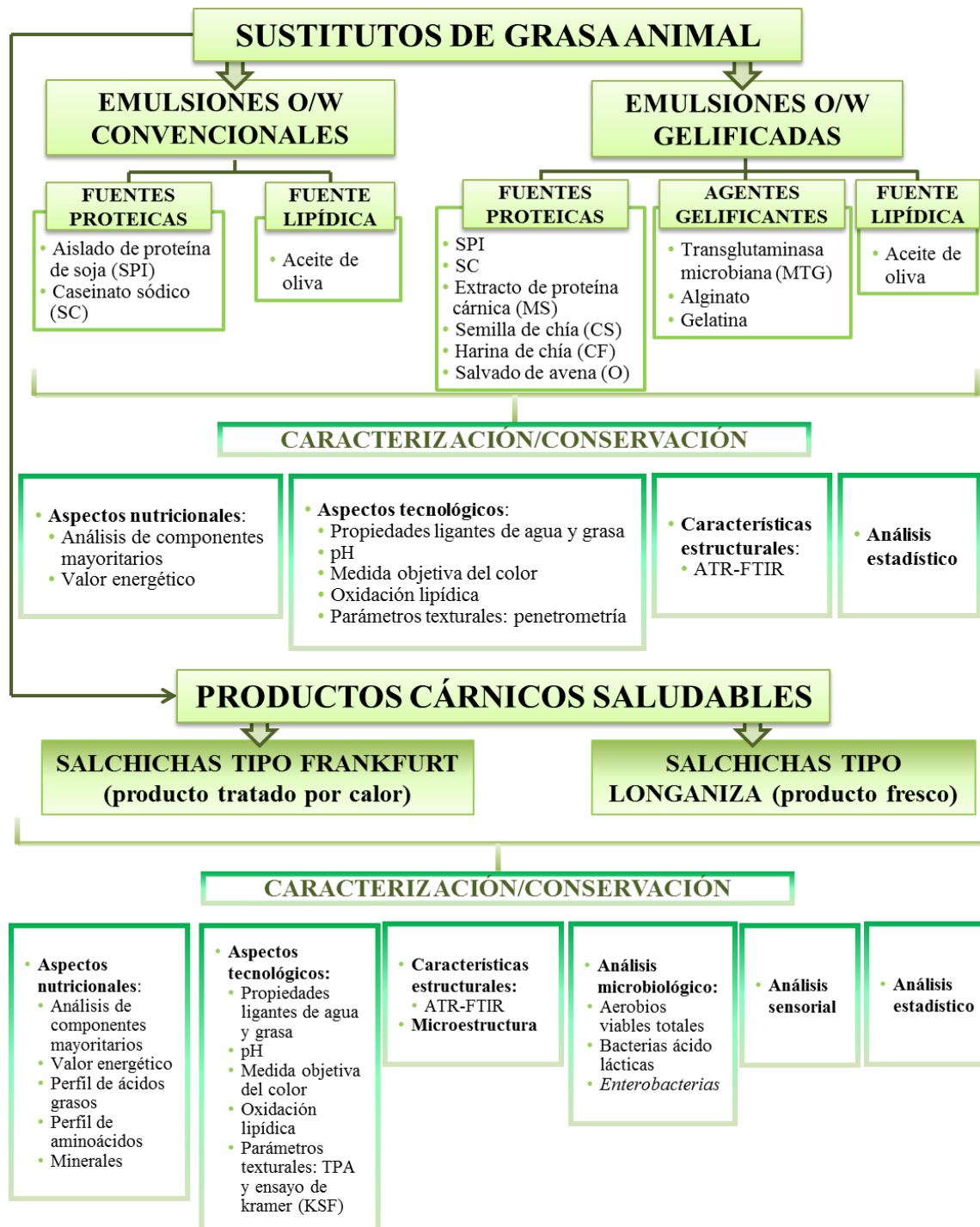
**2. Aplicación de las emulsiones gelificadas en procesos de reformulación de salchichas tipo frankfurt (producto tratado por calor) y salchichas tipo longaniza (producto fresco) así como su caracterización en relación a aspectos nutricionales, tecnológicos, estructurales, microbiológicos y sensoriales. De igual modo se evalúa el efecto de la conservación en condiciones de refrigeración.** Este objetivo se centra en el estudio de procesos de reformulación basados en la sustitución de grasa animal por las emulsiones gelificadas seleccionadas, de entre las desarrolladas previamente, con el fin de obtener productos cárnicos enriquecidos en determinados compuestos bioactivos (AGM, AGP n-3, fibra dietética, minerales, etc.), con adecuada viabilidad tecnológica, microbiológica y sensorial. Igualmente se ha considerado de interés evaluar el efecto de la incorporación de aceites vegetales en emulsiones gelificadas frente a otras estrategias más convencionales (adición directa o en emulsión) empleadas para sustituir la grasa animal. Los productos objeto de estudio fueron seleccionados por su notable grado de aceptación y aptitud para experimentar procesos de reformulación.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente apartado se detallan de forma resumida diversos aspectos relacionados con las materias primas, el desarrollo experimental y la metodología empleada en esta memoria. Tal presentación tiene el objetivo de evitar repeticiones de los aspectos descritos en las publicaciones (Figura 3.1).



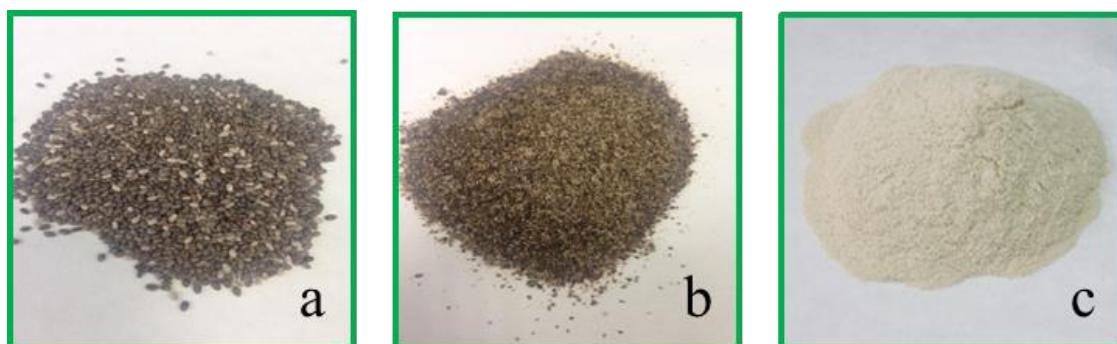
**Figura 3.1.** Esquema del desarrollo experimental y metodología empleada en esta memoria



### 3.1 EMULSIONES O/W: NO GELIFICADAS (CONVENCIONALES) Y GELIFICADAS (EG)

#### 3.1.1 Materias primas

Se utilizó aceite de oliva (Carbonell Virgen Extra, SOS Cuétara S.A., Madrid, España) como fase lipídica, con un 13 % de AGS, 79 % de AGM y 8 % de AGP (Delgado-Pando, et al., 2010b). Las fuentes proteicas empleadas fueron: **i)** aislado de proteína de soja (SPI) (92,1 % de proteína) (Vicoprot, Trades SA, Barcelona, España) (**Capítulo 4.1**); **ii)** caseinato sódico (SC) (86,4 % de proteína) (Julio Criado Gómez SA, Alcorcón, España) (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.4**) y **iii)** extracto de proteína cárnica (MS) obtenido a partir de carne de cerdo (**Capítulo 4.1**). Además, en el caso de las EG también se emplearon otros ingredientes vegetales con un contenido elevado de proteína (Figura 3.2): **iv)** semillas de chía (*Salvia hispanica*, L.) (CS) (Figura 3.2a) (Primaria Premium Raw Materials, SL, Valencia, España) que contenían 22 % de proteína, 31,3 % de lípidos [19,8 % de ácido linoleico (LA) y 60,8 % de ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA)] y un 30,2 % de fibra dietética (fibra insoluble, principalmente) (**Capítulo 4.2**); **v)** harina de chía (CF) (Figura 3.2b) (ChiaSa 2F, SL, Valencia, España) (composición similar a la de las semillas de chía) (**Capítulos 4.2, 4.4, 4.5 y 4.6**); y **vi)** salvado de avena (O) (Figura 3.2c) (OatWell® 22 %, Zeus Química, S.A. Barcelona, España) con 20 % de proteína, 20 % de hidratos de carbono, 44 % de fibra dietética (22 %  $\beta$ -glucanos) y un 5,1 % de contenido lipídico (0,9 % AGS; 2,1 % AGM y 1,9 % AGP) (**Capítulos 4.3 y 4.6**).



**Figura 3.2.** Ingredientes vegetales empleados en la elaboración de EG: semilla de chía (a), harina de chía (b) y salvado de avena (c).

En la formulación de las EG se emplearon diversos agentes gelificantes (Figura 3.1): a) transglutaminasa microbiana (MTG) (actividad enzimática estándar de 100 U/g) [ACTIVA WM y EB (Ajinomoto Europa, DmbH, Hamburgo, Alemania)] (**Capítulos**

**4.1, 4.2 y 4.4)**, b) alginato sódico (90 % de hidratos de carbono) (**Capítulos 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6**) y c) gelatina de cerdo soluble en frío 220 ° Blom (84 % de proteína) (**Capítulos 4.2, 4.3 y 4.5**) de TRADES SA (Barcelona, España). En el caso de las EG preparadas a partir de alginato, se adicionó pirofosfato tetrasódico anhidro y sulfato cálcico de Panreac Química, SA, (Madrid, España).

### **3.1.2 Desarrollo experimental**

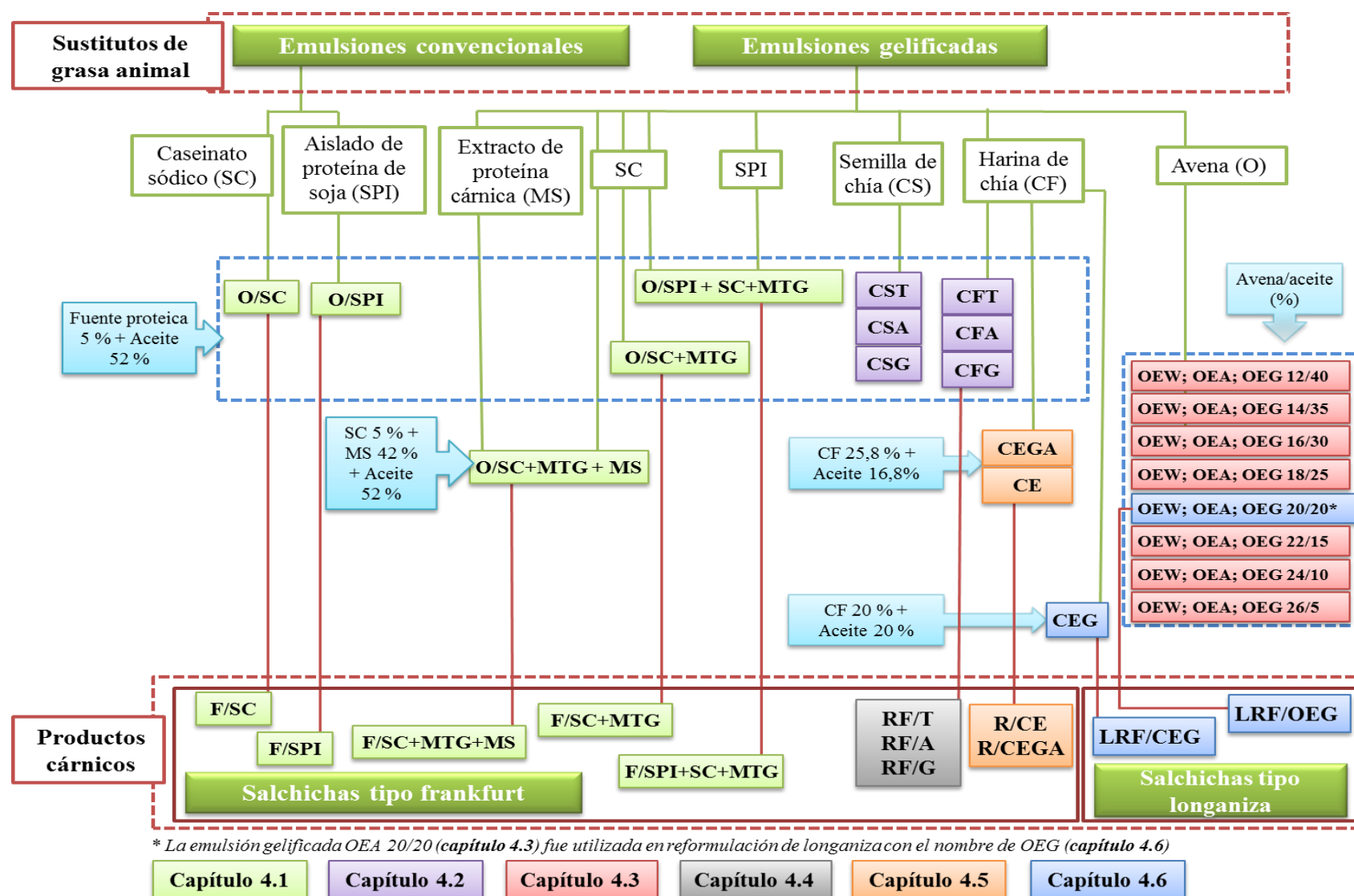
A continuación se detalla una relación de las diferentes emulsiones O/W no gelificadas (convencionales) y gelificadas elaboradas (**Capítulos 4.1, 4.2, 4.3, 4.5 y 4.6**), algunas de ellas utilizadas posteriormente como sustitutos de grasa animal en productos cárnicos (Figura 3.3).

#### *3.1.2.1 Formulación de emulsiones convencionales y EG.*

Se prepararon emulsiones convencionales empleando fuentes proteicas habituales, caseinato (O/SC) y soja (O/SPI), con el fin de estabilizar un 52 % de aceite de oliva (Figuras 3.1 y 3.3) (**Capítulo 4.1**).

Las EG se diseñaron en una primera etapa con estas mismas fuentes proteicas anteriormente señaladas (SC y SPI) (~5 %) y extracto de proteína cárnica (MS) (~5 %), además de MTG como agente gelificante en frío para estabilizar también un 52 % de aceite de oliva. Se elaboraron además emulsiones con diversas combinaciones de estos ingredientes denominadas como O/SC + MTG; O/SC + MTG + MS y O/SPI + SC + MTG (Figuras 3.1 y 3.3) (**Capítulo 4.1**).

En una segunda etapa en el desarrollo de las EG, con un planteamiento más novedoso se ensayaron otras fuentes proteicas, semilla (CS) y harina de chía (CF) (5 %) y 3 tipos de gelificantes en frío MTG (CST y CFT), alginato (CSA y CFA) y gelatina (CSG y CFG), capaces de estabilizar igualmente un 52 % de aceite de oliva (Figura 3.3) (**Capítulo 4.2**). Posteriormente, con el objetivo de potenciar la presencia de los compuestos bioactivos propios de la chía, se aumentó su contenido hasta un 20 % y se disminuyó la cantidad de aceite de oliva (20 %), utilizando alginato como agente gelificante, para elaborar las EG denominadas CEG (Figuras 3.1 y 3.3) (**Capítulo 4.6**). Además, se formularon por un lado emulsiones con un 25,8 % de harina de chía y 16,8 % de aceite de oliva, sin agente gelificante (CE) y con alginato (CEGA) (Figura 3.3) (**Capítulo 4.5**).



**Figura 3.3.** Esquema de los sustitutos de grasa elaborados y su aplicación en productos cárnicos.

Finalmente se diseñaron EG con salvado de avena (O) en cantidades comprendidas entre un 12 - 26 % para estabilizar distintas proporciones de aceite de oliva (5 - 40 %). Algunas fueron elaborados sin agentes gelificantes (OEW), y otras con alginato (OEA) o gelatina (OEG) (Figura 3.3) (**Capítulo 4.3**). Como control se prepararon geles libres de aceite, formulados con 28 % de avena y alginato (OGA) o gelatina (OGG) o sin agente gelificante (OGW) (Figura 3.3) (**Capítulo 4.3**).

#### *3.1.2.2 Elaboración de emulsiones convencionales y EG*

El proceso de elaboración de las emulsiones, convencionales y gelificadas, fue similar excepto que en el segundo caso se realizó la adición del agente gelificante. Para su preparación se mezcló la fuente proteica (aislada o formando parte de un ingrediente, chía o avena) con agua en un homogeneizador [Stephan UM5 Universal, Sohne GmbH and Co., Hameln, Alemania (**Capítulo 4.1**) o Thermomix™ 31, Vorwerk España M.S.L., S.C., Madrid, España (**Capítulos 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6**)]. En las EG, seguidamente se adicionó el gelificante correspondiente y a la mezcla preparada se incorporó el aceite de oliva de forma continua mientras se homogeneizaba. Finalmente, las muestras obtenidas se colocaron en moldes metálicos a los que se les aplicó presión y se conservaron en refrigeración (2 °C) hasta el día siguiente.

Algunas de las EG fueron estudiadas durante su conservación en refrigeración a 2 °C (13 - 15 días) (**Capítulos 4.2 y 4.3**) y congelación a -20 °C (15 días) (**Capítulo 4.3**).

### **3.2 PRODUCTOS CÁRNICOS**

Algunas de las emulsiones descritas fueron seleccionadas para su empleo como sustituto de grasa animal en la reformulación de dos tipos de productos cárnicos, salchichas tipo frankfurt (productos tratados por el calor) (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**) y salchichas tipo longaniza (productos frescos) (**Capítulo 4.6**) (Figuras 3.1 y 3.3).

#### **3.2.1 Materias primas**

La materia prima cárnica usada en la elaboración de las salchichas (tipo frankfurt y longaniza) fue carne magra y tocino de cerdo, ambas adquiridas en un mercado local de Madrid. En el caso de las materias primas empleadas para preparar salchichas tipo frankfurt se picaron (0,4 o 0,6 mm), se envasaron a vacío en bolsas

(Cryovac BB3050) y se conservaron en congelación (-20 °C) hasta su uso (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**). En el caso de las salchichas tipo longaniza, tanto la carne magra como el tocino se trocearon en porciones con un ancho inferior a 5 cm para facilitar su posterior introducción en la picadora, se envasaron de forma independiente y se conservaron como la anterior (**Capítulo 4.6**).

Otros ingredientes utilizados en la elaboración de salchichas tipo frankfurt fueron cloruro sódico (Panreac Química, SA, Barcelona, España), tripolifosfato sódico (TPP) (Manuel Riesgo, SA, Madrid, España), nitrito sódico (Fulka Chemie GmbH, Buchs, Alemania), saborizante (Gewürzmüller, GmbH, Münchingen, Alemania) (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**). Se empleó un aditivo comercial y específico en el caso de la longaniza (AVI, ANVISA, Madrid, España) (**Capítulo 4.6**).

### **3.2.2 Diseño experimental**

A continuación se detalla el diseño y desarrollo de los diferentes productos cárnicos elaborados (Figuras 3.1 y 3.3).

#### *3.2.2.1 Formulación de salchichas tipo frankfurt*

El desarrollo de las salchichas tipo frankfurt se basó en la sustitución total del tocino por distintas emulsiones con el objetivo de mejorar su contenido lipídico y favorecer la presencia de otros compuestos con efectos beneficiosos para la salud (Figuras 3.1 y 3.3). En primer lugar se ensayó el empleo de emulsiones convencionales (O/SC y O/SPI) y gelificadas (O/SC + MTG; O/SC + MTG + MS y O/SPI + SC + MTG) en la preparación de las salchichas (F/SC, F/SPI, F/SC+MTG, F/SC+MTG+MS y F/SPI+SC+MTG) (Figura 3.3) (**Capítulo 4.1**). Posteriormente, con EG de harina de chía (5 %) (CFT, CFA y CFG) se desarrollaron salchichas tipo frankfurt con reducido contenido de grasa (RF/T, RF/A y RF/G; Figura 3.3). Finalmente, con el fin de poder realizar declaraciones nutricionales y de propiedades saludables (Comisión Europea, 2006, 2012a), se ensayó la incorporación de cantidades superiores de harina de chía (10 %) y aceite de oliva (6,5 %) probando diferentes vías de incorporación: directa (R/CO), en forma de emulsión convencional (R/CE) o como emulsión gelificada (R/CEGA) (**Capítulo 4.5**). Además, como control se elaboraron salchichas con contenido normal (20-24 %) (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**) y reducido (12 - 14 %) de grasa animal (**Capítulos 4.4 y 4.5**).

### *3.2.2.2 Formulación de salchichas tipo longaniza*

El desarrollo de las salchichas tipo longaniza se basó en la sustitución de parte de la grasa animal (sustitución del 90 % del tocino) por EG con el propósito de optimizar su contenido lipídico y promover la presencia de otros compuestos bioactivos (**Capítulo 4.6**). Estas salchichas se reformularon empleando EG elaboradas con 20 % de aceite de oliva, 20 % de chía (CEG) o de avena (OEG) y alginato (LRF/CEG y LRF/OEG). Como referencia se prepararon productos control con un contenido normal (29,9 %) (LNF/P) y reducido (10,0 %) (LRF/P) de grasa animal (Figura 3.3) (**Capítulo 4.6**).

### *3.2.2.3 Elaboración de productos cárnicos*

Por tratarse de productos cárnicos de distinta naturaleza, la descripción de su elaboración también se hace por separado aunque de forma resumida. Mayor detalle puede encontrarse en los Capítulos correspondientes (**Capítulos 4.1, 4.4, 4.5 y 4.6**).

- Salchichas tipo frankfurt

Las materias primas cárnicas empleadas en la elaboración de salchichas tipo frankfurt se descongelaron hasta alcanzar una temperatura entre -1 y -2 °C. Una vez atemperadas se homogeneizó la carne magra en una picadora-homogeneizadora refrigerada a 2 °C (Stephan Universal Machine UM5, Stephan u. Söhne, Hamlen, Alemania). A continuación se añadió el tocino o su sustituto correspondiente y el resto de los ingredientes (agua, NaCl, TPP, nitritos y saborizante) de acuerdo a su formulación (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**). La mezcla se homogenizó en condiciones de vacío. El tiempo total de homogeneización se fijó en cinco minutos asegurándose que la temperatura final de la masa siempre estuviera por debajo de los  $14 \pm 2$  °C. La masa cárnica así obtenida se embutió (embutidora manual Mainca, Barcelona) en tripas de celulosa de 20 mm de diámetro (Viscase SA, Bagnold Cedex, Francia). Una vez embutidas, las salchichas se sometieron a un tratamiento térmico en un horno ahumador (Unimatic 1000, Micro 40, Eller, Merano, Italia) hasta alcanzar 70 °C en el centro térmico. Finalizado el proceso térmico las muestras se atemperaron y almacenaron en condiciones de refrigeración (2 °C) (hasta el día siguiente). Transcurrido este tiempo se eliminaron las tripas, y el producto fraccionado (longitud 10 cm. aproximadamente), se

envasó a vacío en bolsas (Cryovac BB3050) y se conservó en refrigeración (2 °C) para su posterior análisis (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**).

- Salchichas tipo longaniza

Las materias primas cárnicas se descongelaron hasta alcanzar una temperatura entre -1 y -2 °C. A continuación, estas materias primas cárnicas junto con las no cárnicas (EG de chíca o avena) se sometieron a un proceso de picado ( $\varnothing$  6 mm en picadora Vam.Dall. Srl. Modelo FTSIII, Treviglio, Italia) y posterior mezclado (MAINCA, Granollers, Barcelona, España) junto con el resto de ingredientes (agua y aditivo comercial). La masa obtenida se embutió (embutidora manual MAINCA, Granollers, Barcelona, España) en tripas naturales de cordero de 20 - 22 mm de diámetro (Tipo C-20/22 Julio Criado Gómez S.A., Alcorcón, España) preparando muestras de tamaño estándar (longitud de  $10 \pm 2$  cm) que se colocaron en una cámara de refrigeración (2 °C) durante 18 h. Transcurrido ese tiempo, las salchichas se envasaron en bandejas EPS (2 unidades/bandeja) (Tipo 89 white SPT—Linpac Packaging Pravia, S.A. N R.G.S., España) cubiertas con un film permeable al oxígeno (LINPAC Plastics, Pontivy, Francia) y almacenadas en refrigeración 2 °C hasta su análisis (**Capítulo 4.6**).

### **3.3 CARACTERIZACIÓN Y ESTABILIDAD DE EMULSIONES Y PRODUCTOS CÁRNICOS**

En las emulsiones (convencionales y gelificadas) se evaluaron aspectos nutricionales, tecnológicos y características estructurales (Figuras 3.1 y 3.3) (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**). En los productos cárnicos reformulados (salchichas tipo frankfurt y longaniza) se analizaron igualmente aspectos nutricionales, tecnológicos, características estructurales y además su viabilidad microbiológica y características sensoriales (Figura 3.1). En su caso se estudió el efecto de la conservación en refrigeración (2 °C) (**Capítulos 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6**), y congelación (-20 °C) (**Capítulo 4.3**).

#### **3.3.1 Aspectos nutricionales**

##### *3.3.1.1 Componentes mayoritarios*

La determinación de humedad y cenizas se realizó de acuerdo al procedimiento de AOAC (2005). La cantidad de proteína se evaluó mediante un analizador automático

de nitrógeno (LECO FP-2000, Leco Corporation, St Joseph, MI, EEUU). El contenido en grasa se determinó tras su extracción con una mezcla cloroformo/metanol siguiendo el método descrito por Bligh y Dyer (1959). La determinación de la fibra dietética total se llevó a cabo en productos cárnicos siguiendo un método enzimático-gravimétrico (AOAC, 2002). El contenido de fibra dietética insoluble se evaluó por la determinación de fibra neutro detergente (Vansoest, et al., 1991). En todos los casos los resultados se expresaron en g/100 g de producto.

#### *3.3.1.2 Valor energético*

El valor energético fue calculado en base al Reglamento (UE) nº 1169/2011 (Comisión Europea, 2011). Para su determinación se emplearon los valores medios de proteína, grasa y fibra dietética obtenidos en cada estudio (**Capítulos 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6**). Los resultados se expresaron como Kcal/100 g de muestra.

#### *3.3.1.3 Perfil de ácidos grasos*

El perfil de ácidos grasos en salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.4 y 4.5**) se determinó según López-López, et al. (2009a) analizando y cuantificando los ésteres metílicos (FAME) empleando un cromatógrafo de gases (Shimadzu, Modelo GC-2014, Kyoto, Japón), usando patrones de referencia para su identificación [Mix 100m SP-2560 y Animal source FAMES (47015-U); Supelco, Alltech Associated, Inc. Deerfield, IL, EEUU]. En salchichas tipo longaniza (**Capítulo 4.6**) se determinó a partir de producto liofilizado (Liofilizador Telstar-Cryodos equipment, Tarrasa, España) según Lee, et al. (2012) analizando y cuantificando los ésteres metílicos a través de un cromatógrafo de gases (Shimadzu Modelo 7820A, CA-EEUU). Como patrón de referencia para su identificación se empleó un patrón de referencia (47015-U Supelco PUFA No.2 Animal Source, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EEUU). Los resultados se expresaron como g/100 g de muestra.

#### *3.3.1.4 Aminoácidos*

La determinación de aminoácidos en salchichas tipo longaniza (**Capítulo 4.6**) se realizó siguiendo la metodología descrita por Serrano, et al. (2005), empleando cromatografía de intercambio catiónico (Amersham Pharmacia Biotech. Biocom,



Uppsala, Sweden) y Ninhidrina como reactivo derivatizante. Los resultados se expresaron como % de aminoácido en relación con el contenido proteico del producto.

#### *3.3.1.5 Minerales*

Se determinó el contenido de minerales (Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P y Zn) en los productos cárnicos reformulados, salchichas tipo frankfurt y longaniza (**Capítulos 4.4, 4.5 y 4.6**). Las muestras se sometieron a una digestión ácida y se analizaron en un espectrofotómetro de plasma de acoplamiento inductivo (ICP) (Perkin-Elmer, Modelo 4300 DV, Norwalk, Connecticut, USA). Los resultados se expresaron como mg/100 g de muestra.

### **3.3.2 Aspectos tecnológicos**

#### *3.3.2.1 Propiedades ligantes de agua y grasa*

La metodología para determinar las propiedades ligantes de agua y grasa se basó en cuantificar los cambios de peso por efecto del procesado, tratamiento térmico o conservación, expresado como porcentaje (%) respecto al peso inicial del producto.

- Pérdidas por procesado

Estas pérdidas se estudiaron en las salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**) y se calcularon como la suma de las mermas de peso producidas durante el tratamiento térmico y conservación (2 °C) durante 24 h.

- Pérdidas por tratamiento térmico

Estas pérdidas se estudiaron en los sustitutos de grasa (emulsiones convencionales y gelificadas) (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**), salchichas tipo frankfurt (**Capítulo 4.1**) y salchichas tipo longaniza (**Capítulo 4.6**) midiendo el exudado producido por el tratamiento térmico a 70 °C durante 30 minutos. Los parámetros calculados fueron el exudado total liberado (TFR), el agua liberada (WR) tras el secado del TFR (16 h a 105 °C) y la grasa liberada (FR) calculada como diferencia del TFR y WR.

- Pérdidas durante la conservación

Se calcularon las pérdidas de peso durante la conservación (refrigeración y congelación) tanto para EG (**Capítulos 4.2 y 4.3**) como para salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.4 y 4.5**).

#### *3.3.2.2 pH*

Se determinó en un pH-metro (modelo 827, Metrohm AG, Suiza) después de homogeneizar 10 g de muestra con 100 ml de agua destilada (**Capítulos 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6**).

#### *3.3.2.3 Medida objetiva del color*

La evaluación del color se determinó sobre la superficie del corte transversal de la muestra por el método de reflectancia mediante el sistema de coordenadas CIELab en dos tipos de colorímetros: CR-400 Chroma Meter (**Capítulos 4.1, 4.2, 4.4 y 4.5**) y Konica Minolta CM-3500d (**Capítulo 4.3**) (Konica Minolta Business Technologies, Inc, Tokio, Japón). Se determinaron los parámetros: L\* que representa la luminosidad (0 es negro y 100 blanco), a\* la tendencia al rojo (-60 es verde y +60 rojo) y b\* la tendencia al amarillo (-60 es azul y +60 amarillo).

#### *3.3.2.4 Oxidación lipídica*

La oxidación lipídica se midió mediante la determinación de las sustancias reactivas con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs) en EG de harina y semilla de chía (**Capítulo 4.2**) y salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.4 y 4.5**) según describen Serrano, et al. (2006). Se obtuvo una coloración rosa característica que fue medida a 532 nm en un espectrofotómetro (Uvikon 930, Kontron Instruments S.A., Madrid, España). Se determinó una curva de calibración con 1,1,3,3-tetraetoxipropano y se expresaron así los resultados en mg de malonaldehído por kg de muestra.

#### *3.3.2.5 Parámetros texturales*

Para la evaluación de la textura se empleó un texturómetro (TA-Xt.Plus, Texture Technologies Corp. Scarsdale, NY, EEUU). El tipo de metodología varió de acuerdo a la naturaleza intrínseca de cada producto. Todos los ensayos fueron llevados a cabo a temperatura ambiente.

- Ensayo de penetrometría

La textura de emulsiones convencionales (**Capítulo 4.1**) y EG (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**) se analizó mediante un ensayo de penetrometría. Las medidas se realizaron con una célula de carga de 5 kg, a una velocidad de 0,8 mm/s y utilizando sondas cilíndricas de 6 mm (**Capítulo 4.1**) y de 4 mm (**Capítulos 4.2 y 4.3**) de diámetro. Resultado del ensayo de penetración se generaron las correspondientes curvas fuerza-deformación, de las que se obtuvieron los parámetros i) fuerza de penetración (PF; N), ii) resistencia del gel (GS; mJ), iii) distancia al punto de ruptura del gel (mm) y iv) pendiente de la curva fuerza-penetración (N/mm).

- Análisis del perfil de textura (TPA)

La evaluación de las características texturales de las salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**) se realizó mediante TPA de acuerdo al procedimiento descrito por Bourne (1978). Se prepararon porciones cilíndricas de 20 mm de longitud y diámetro del producto (aprox. 20 mm), que posteriormente se sometieron a una doble compresión axial, hasta un 40 %. El ensayo se realizó a una velocidad de 0,8 mm/s con una célula de carga de 5 kg para obtener las curvas de fuerza-deformación, a partir de las cuales se calcularon los parámetros i) dureza (N), ii) cohesividad (adimensional), iii) elasticidad (mm), iv) masticabilidad (Nxmm) y v) adhesividad (Nxs).

- Ensayo de fuerza de cizalla

En las muestras de salchichas tipo longaniza (**Capítulo 4.6**) se realizó el ensayo de cizalla [fuerza de cizalla Kramer (*KSF*)] utilizando la célula miniatura Kramer/Ottawa (HDP/MK05). Se prepararon porciones de 2 cm de largo sin piel previamente pesadas. El ensayo se realizó penetrando la muestra 25 mm a una velocidad de 0,8 mm/s con la célula de carga de 25 kg. Los resultados se expresaron como el valor de fuerza máxima (fuerza de extrusión, N) respecto al peso de la muestra (g) (N/g).

### **3.3.3 Características estructurales**

#### *3.3.3.1 Espectroscopía ATR-FTIR*

Se empleó la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) de reflexión total atenuada (ATR) para determinar las características estructurales (Herrero,

et al., 2011a) de emulsiones de chía (semilla y harina) gelificadas (**Capítulo 4.2**) y salchichas tipo frankfurt en las que éstas fueron incorporadas como sustitutos de grasa (**Capítulo 4.5**).

El espectro infrarrojo de las muestras fue registrado en un espectrómetro Perkin-Elmer SpectrumTM 400 en modo mid-IR. Para el análisis de datos se utilizó el programa Spectrum versión 6.3.2 y Grams/AI version 9.1 (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA) software.

### **3.3.4 Microestructura**

Mediante microscopía electrónica de barrido, siguiendo la metodología propuesta por Jiménez-Colmenero, et al. (1995b), se analizó la microestructura de salchichas tipo frankfurt (**Capítulo 4.1**).

### **3.3.5 Análisis microbiológico**

Se realizaron recuentos de microorganismos aerobios viables totales (TVC), Enterobacterias y bacterias ácido lácticas (LAB) en salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.4 y 4.5**) y salchichas tipo longanizas (**Capítulo 4.6**).

Para el recuento de TVC se utilizó el medio de cultivo *Plate Count Agar* (PCA) a 30 °C durante 72 h. El recuento de Enterobacterias se realizó en medio *Violet Red Bile Glucose Agar* (VRBG) incubando a 37 °C durante 24 h. La determinación de LAB se hizo en medio *Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRS) (doble capa) incubando entre 3 y 5 días a 30 °C. Los resultados se expresaron como el logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (Log ufc/g).

### **3.3.6 Análisis sensorial**

Se realizó un análisis sensorial de los productos cárnicos elaborados [salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**) y salchichas tipo longaniza (**Capítulo 4.6**)]. La selección de los catadores se llevaó a cabo mediante sesiones de entrenamiento en las que los panelistas se familiarizaron con los productos y los atributos a valorar. Las muestras preparadas de acuerdo a su naturaleza se identificaron con número/letra aleatorio. Los atributos sensoriales evaluados (apar iencia general, sabor, textura, color, olor, jugosidad y aceptabilidad general) se cuantificaron mediante una escala numérica estructurada de 0 a 10.

### **3.3.7 Análisis estadístico**

Para determinar el efecto de la formulación sobre los diferentes parámetros estudiados, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía (**Capítulos 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6**). Se utilizó el test “post host” de la diferencia significativa de Tukey (*Honest Significant Difference*, HSD) para determinar las diferencias significativas entre grupos. Para establecer el efecto de las formulaciones y el tiempo de conservación en los parámetros medidos, se utilizó un ANOVA de dos vías donde se empleó el test HSD de Tukey para determinar las diferencias significativas. Para evaluar la existencia de una correlación lineal significativa entre dos variables se utilizó la correlación de Pearson. El nivel de significación quedó establecido en  $P < 0.05$  para todos los análisis.

Para el análisis estadístico de los resultados se emplearon los siguientes programas: SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill., U.S.A.) y Statgraphics Plus 5.1 (STSC Inc. Rockville, MD, EEUU).

## **4. TRABAJO EXPERIMENTAL**



## 4. TRABAJO EXPERIMENTAL

En este capítulo se recoge el trabajo experimental que da lugar a la presente memoria.

Por un lado se presentan los resultados relativos al diseño, desarrollo y caracterización, a nivel de composición y de propiedades tecnológicas, de diversas emulsiones gelificadas:

- 4.1 Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters.** (2010). *Food Research International*, 43, 2068-2076.
- 4.2 Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica* L.) and cold gelling agents: technological and infrared spectroscopic characterization.** (2015). *Food Chemistry*, 185, 470-487.
- 4.3 Emulsion gels as potencial fat replacers delivering  $\beta$ -glucan and healthy lipid content for food applications.** (2016). *Journal of Food Science and Technology*, 53, 4336-4347.

Por otro lado se incluyen los resultados relacionados con el efecto derivado de la sustitución de grasa animal por EG en los productos seleccionados:

✓ **Salchichas tipo frankfurt** (producto tratado por calor):

- 4.1 Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters.**
- 4.4 Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological, and structural properties of frankfurters.** (2015). *Food Science and Technology International*, 22, 132-145.
- 4.5 Strategies for incorporation of chia (*Salvia hispanica* L.) in frankfurters as health-promoting ingredient.** (2016). *Meat Science*, 114, 75-84.

✓ **Salchichas tipo longaniza** (producto fresco):

- 4.6 Chia and oat emulsion gels as new animal fat replacers and healthy bioactive sources in fresh sausage formulation.** *Meat Science* (en revisión)





**4.1 Influence of emulsified olive oil stabilizing system  
used for pork backfat replacement in frankfurters**

*Food Research International, 2010, 43, 2068-2076*





## Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters

F. Jiménez-Colmenero<sup>a,\*</sup>, A. Herrero<sup>a</sup>, T. Pintado<sup>a</sup>, M.T. Solas<sup>b</sup>, C. Ruiz-Capillas<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto del Frío (CSIC), Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, Spain

<sup>b</sup> Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 19 January 2010

Accepted 22 June 2010

#### Keywords:

Oil-in-water emulsion

Frankfurter

Olive oil

Physicochemical properties

Microstructure

Sensory analysis

### ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the influence of emulsified olive oil stabilizing systems used for pork backfat replacement on frankfurter characteristics. The oil-in-water emulsions were stabilized with various protein systems formulated using sodium caseinate, soy protein isolate, meat protein and microbial transglutaminase. These emulsions presented excellent fat and water binding properties, with no noticeable release of exudate after heating. Penetration parameters differentiated several types of rheological behaviour in oil-in-water emulsions as affected by the emulsified olive oil stabilizing system. Generally frankfurters made with the different oil-in-water emulsions presented good water and fat binding properties, greater ( $P<0.05$ ) hardness, cohesiveness and chewiness and poorer ( $P<0.05$ ) adhesiveness than control (all pork fat) frankfurters. Matrix morphological characteristics of frankfurters were affected by the type of oil-in-water emulsions used as non-meat ingredients. General acceptability scores of frankfurters prepared with the olive oil-in-water emulsions were similar to those of samples formulated with all pork fat.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Frankfurters are popular, frequently-consumed meat products and as such are of considerable economic importance and enjoy wide consumer acceptance in certain sectors of the population. However, this kind of product presents some negative health concerns regarding the amounts and types of animal fats that they contain (Bloukas & Paneras, 1993; Paneras, Bloukas & Filis, 1998; Jiménez-Colmenero, 2007). Animal fats (and especially saturated fatty acids) have been associated with various diet-related diseases, among them coronary heart disease (Williamson, Foster, Stanner & Buttriss, 2005; McAfee et al., 2010). Negative perceptions of lipid materials can contribute to loss of market share for meat products, especially when health considerations are an important quality criteria influencing the consumer's decision to purchase a particular meat product.

Reformulation of meat products based on processing strategies is one of the most important approaches currently being followed to achieve better lipid compositions. Healthier lipid reformulation is generally based on reducing fat content and/or replacing (to a greater or lesser extent) the animal fat normally present in the product with another fat whose characteristics are more in line with health recommendations: i.e. with smaller proportions of saturated fatty acids (SFAs) and larger proportions of monounsaturated fatty acids (MUFA) or polyunsaturated fatty acids (PUFA, especially long chain n-

3 PUFA), better n-6/n-3 PUFA and PUFA/SFA ratios, and if possible no cholesterol. A variety of plant (olive, linseed, canola, etc.) and marine (fish and algae) origin have been added to different meat products as partial substitutes for meat fats, mainly pork or beef (Jiménez-Colmenero, 2007).

Of vegetable oils, olive is the one that has received most attention in meat product reformulation, chiefly as a source of MUFA. Olive oil is the most monounsaturated vegetable oil and has a high biological value, attributed to a favourable mix of predominantly MUFA and naturally occurring antioxidants (vitamin E, vitamin K, carotenoids and various polyphenols: hydroxytyrosol, tyrosol and oleuropein). Oleic acid (*cis* C18:1) makes up 92% of the MUFA present in foods, and almost 60–80% of oleic acid comes from olive oil (López-Miranda, Pérez-Martínez & Pérez-Jiménez, 2006). The potential positive influences of olive oil on health include improvement of major risk factors for cardiovascular disease such as lipoprotein profile, blood pressure, glucose metabolism and antithrombotic profile. This has a positive influence on inflammation, endothelial function and oxidative stress. Intake of MUFA may protect against age-related cognitive decline and Alzheimer's disease. And olive oil consumption is reported to help prevent breast and colon cancer (López-Miranda et al., 2006; Waterman & Lockwood, 2007).

The incorporation of olive oil has been assayed in meat products such as fermented sausages (Bloukas, Paneras & Fournitzis, 1997; Kayaardi & Gök, 2003; Koutsopoulos, Koutsimanis & Bloukas, 2008) and beef patties (Hur, Jin & Kim, 2008). In frankfurters, partial replacement (in various percentages) of pork backfat with olive oil has been tried (ranging between 3–10 g of olive oil per 100 g of product), essentially to produce

\* Corresponding author. Tel.: +34 91 549 23 00; fax: +34 91 549 36 27.

E-mail address: [fjimenez@if.csic.es](mailto:fjimenez@if.csic.es) (F. Jiménez-Colmenero).

low-fat formulations (Paneras & Bloukas, 1994; Pappa, Bloukas & Arvanitoyannis, 2000; Lurueña-Martinez, Vivar-Quintana & Revilla, 2004; Vural, Javidipour & Ozbas, 2004; López-López, Cofrades & Jiménez-Colmenero, 2009a; López-López, Cofrades, Ruiz-Capillas, & Jiménez-Colmenero, 2009b; Choi et al., 2009). In frankfurters (as in other meat products), partial substitution of pork backfat with olive oil increases MUFA contents without significantly altering the n-6/n-3 PUFA ratio (Jiménez-Colmenero, 2007; López-López et al., 2009b).

Various technology options for animal fat replacement have been assayed for the development of different healthier lipid meat products (Jiménez-Colmenero, 2007). Olive oil has been incorporated in meat emulsion systems such as frankfurters in liquid (Lurueña-Martinez et al., 2004; López-López et al., 2009a; López-López et al., 2009b) or interesterified (Vural et al., 2004) form, but the most widely-used procedure is stabilized in oil-in-water emulsion. Because of their physicochemical characteristics oil-in-water emulsions (pre-emulsions) are a suitable technological option for stabilizing the non-meat fats added to meat derivatives as ingredients (Bishop, Olson & Knipe, 1993; Djordjevic, McClements & Decker, 2004). There are a number of procedures that can be used to produce a plant or marine oil-in-water emulsion (with an emulsifier, typically a protein of non-meat origin) for incorporation in meat derivatives (Jiménez-Colmenero, 2007), but only sodium caseinate has been used to stabilize olive oil for incorporation in frankfurter-type products (Paneras & Bloukas, 1994; Ambrosiadis, Vareltsis & Georgakis, 1996; Paneras et al., 1998; Pappa et al., 2000; Choi et al., 2009). As far as the authors are aware, there are no references in the literature to studies on the influence of emulsified olive oil stabilizing systems used as animal fat replacers in frankfurters. Compared to habitually used meat fats, these new lipid materials (as non-meat ingredient in meat product formulation) have different physicochemical characteristics, which are affected by the stabilizing system (Roesch & Corredig, 2002; Lee, Choi & Moon, 2006; Gonzalo-Pando, Cofrades, Ruiz-Capillas, Solas, & Jiménez-Colmenero, 2010). Because olive oil-in-water emulsions are added to frankfurters as fat ingredients, their physicochemical characteristics affect their role in the meat system and hence the quality properties of the reformulated product (Jiménez-Colmenero, 2007). There is therefore a practical possibility of modulating the characteristics of healthier reformulated lipid products such as frankfurters (and promoting the replacement of animal fat by oils) by using oil-in-water emulsions (as affected by the emulsified oil stabilizing system) as non-meat ingredients. In fact biopolymers formed by transglutaminase-catalysed reactions (soybean protein, casein and others) have been used to stabilize emulsions (Lee et al., 2006) and improve the texture of chicken sausage (Muguruma et al., 2003). It is also possible that the physicochemical properties required of oil in water emulsions may differ according to the kind of meat product concerned.

As a contribution to the development of handier and more versatile procedures for replacing animal fat with plant or marine oils, we conducted a study to assess the effect on frankfurter properties (fat and water binding properties, texture, colour, microstructure and sensory analysis) of replacing pork backfat with different types of olive oil-in-water emulsions. The olive oil-in-water emulsions used as non-meat ingredients were stabilized with various protein systems formulated using sodium caseinate, soy protein isolate, meat protein and microbial transglutaminase.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Fresh post-rigor pork meat (mixture of *M. biceps femoris*, *M. semimembranosus*, *M. semitendinosus*, *M. gracilis* and *M. adductor*) and pork backfat were obtained from a local meat market. The meat was trimmed of fat and connective tissue and the pork fat was passed

through a grinder with a 0.4 mm plate. Lots of approx. 1 kg were vacuum packed, frozen and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until use, which took place within 2 weeks.

Ingredients used for preparation of oil-in-water emulsions included: olive oil (13% SFA, 79% MUFA and 8% PUFA) (Carbonell Virgen Extra, SOS Cuétara SA, Madrid, Spain); sodium caseinate (SC) 86.4% protein content (Julio Criado Gómez SA, Alcorcón, España); soy protein isolate (SPI) 92.1% protein concentration (Vicoprot, TRADES S. A., Barcelona, España), and microbial transglutaminase (MTG) (ACTIVA WM, Ajinomoto Europe Sales GmbH, Hamburg, Germany). According to supplier information, the enzyme was in a mixture containing 1% transglutaminase and 99% maltodextrin, with a standard transglutaminase activity of approximately 100 U/g.

Others ingredients and additives used were sodium chloride (Panreac Química, S.A. Barcelona, Spain), sodium tripolyphosphate (STP) (Manuel Riesgo, S.A. Madrid, Spain) and sodium nitrite (Fulka Chemie GmbH, Buchs, Germany).

### 2.2. Olive oil-in-water emulsions

#### 2.2.1. Olive oil-in-water emulsion preparation

Five different types of oil-in-water emulsions were formulated (Table 1) and prepared using a homogenizer (Stephan UM5 Universal, Söhne GmbH and Co., Hameln, Germany) with a temperature control water bath set at  $5^{\circ}\text{C}$ . The O/SC emulsion was prepared by mixing water with sodium caseinate for 2 min in the Stephan Universal Machine. The mixture was emulsified with olive oil for another 3 min. The O/SPI emulsion was prepared by mixing hot water ( $60\text{--}65^{\circ}\text{C}$ ) with soy protein isolate for 2 min in the Stephan Universal Machine. The mixture was emulsified for a further 3 min with olive oil. Both sample preparations have been used in the reformulation of numerous cooked and fermented meat products (Jiménez-Colmenero, 2007). O/SC + MTG oil-in-water emulsion was prepared in the same way as O/SC but including MTG (Table 1). A meat slurry (MS) was prepared by homogenizing (Omnimixer 2 min) 30 g of meat with 770 ml of water ( $2^{\circ}\text{C}$ ) for use in preparation of the O/SC + MTG + MS emulsion (Table 1). This emulsion was prepared by mixing MS with SC and MTG in the Stephan Universal Machine for 2 min. The mixture was emulsified for a further 3 min with olive oil. O/SPI + SC + MTG emulsion was prepared in the same way as O/SPI but including SC and MTG (Table 1).

The temperature of the emulsions was less than  $10^{\circ}\text{C}$  at the end of the process. They were stored for 24 h at  $2 \pm 2^{\circ}\text{C}$  before physicochemical determinations and frankfurter preparation. Each oil-in-water emulsion was prepared in duplicate.

#### 2.2.2. Emulsion stability and pH

Thermal emulsion stability of the different oil-in water emulsions was determined (in quadruplicate) based on the procedure of Jiménez-Colmenero, Carballo and Solas (1995b). The sample was stuffed into tubes, which were hermetically sealed, centrifuged ( $2500\text{ g}/15\text{ min}/3^{\circ}\text{C}$ ) (Multifuge 3L-R, Kendro Laboratory Products GmbH, Hanau, Germany) and heated in a waterbath for 30 min at  $70^{\circ}\text{C}$ . Once the heating process was concluded, they were opened and left to stand upside down (for 50 min) to release the separated fat and

**Table 1**  
Formulation (g) of olive oil-in-water emulsions.

Samples	Olive oil	Water	SPI	MS	MTG	SC
O/SC	526.3	421.0	–	–	–	52.6
O/SPI	526.3	421.0	52.6	–	–	–
O/SC + MTG	526.3	421.0	–	–	3.58	52.6
O/SC + MTG + MS	526.3	–	–	421.0	3.58	52.6
O/SPI + SC + MTG	526.3	421.0	52.6	–	3.58	9.47

SC: sodium caseinate; SPI: soy protein isolated; MTG: microbial transglutaminase; MS: meat slurry.

water onto a plate. Emulsion stability, as total fluid release, was expressed as % of initial sample weight.

The pH was determined on a Radiometer model PHM 93 pH-meter (Meterlab, Copenhagen, Denmark) at room temperature on homogenates of emulsion in water in a ratio 1:10 (w/v). Six determinations of the analysis were performed for each formulation.

### 2.2.3. Penetration test

Penetration test performed on olive oil-in-water emulsions at room temperature ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ), was determined based on the procedure of Carballo, Fernández, Barreto, Solas and Jiménez Colmenero (1996). The test was performed using a 6 mm diameter cylindrical stainless steel plunger attached to a 5 kg cell connected to the crosshead of TA-XT plus Texture Analyzer (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY). The corresponding force–penetration curves (at 0.8 mm/s crosshead speed) were plotted and analysed. The texture parameters of each sample derived from these curves were: penetration force (PF, N), the force exerted at 10 mm in O/SC and O/SPI and at the point of gel rupture for the rest of the emulsions (Table 1); distance at the point of gel rupture (D, mm); slope of the force–deformation curve (S, dimensionless), and gel strength (GS, J), which is defined as the area enclosed by the force–deformation curve (penetration at 10 mm in O/SC and O/SPI and at the point of gel rupture for the rest of the emulsions). Determinations were carried out six times.

## 2.3. Frankfurters

### 2.3.1. Preparation of frankfurters

Meat and fat packages were thawed (approx. 18 h at  $3 \pm 2^\circ\text{C}$ ) prior to use. Six different frankfurters were prepared as reported in Table 2. The preparation of frankfurter was as described by Jiménez-Colmenero, Barreto, Mota, and Carballo, (1995a). Briefly, raw meat material was homogenized and ground for 1 min in a chilled cutter ( $2^\circ\text{C}$ ) (Stephan Universal Machine UM5, Stephan u. Söhne GmbH and Co., Hameln, Germany). Half of the pork backfat or oil-in-water emulsion (depending on the formulation), NaCl, STP and sodium nitrite (the last two previously dissolved in the added water) were added to the ground meat and mixed again for 1 min. The rest of the additives, the pork backfat and the oil-in-water emulsion were added and the whole homogenized for 1 min. Finally the whole meat batter was homogenized under vacuum conditions for 2 min. Mixing time was standardized at 5 min. The final batter temperature was below  $14^\circ\text{C}$  in all cases.

The meat batter was stuffed into 20 mm diameter Nojax cellulose casings (Viscase S.A., Bagnold Cedex, France) and hand-linked. Frankfurters were heat processed in an Eller smokehouse (model Unimatic 1000, Micro 40, Eller, Merano, Italy) until the core of the product reached  $70^\circ\text{C}$ . Heat processing conditions were defined beforehand; in the definition process the internal temperature was monitored throughout heating by means of thermocouples inserted in each frankfurter (thermal centre) and connected to a temperature

recorder (Yokogawa Hokuskin Electric YEM, Mod. 3087, Tokyo, Japan). Once heating was complete, the frankfurters were cooled (at room temperature), packed without vacuum and placed in a cold chamber ( $2^\circ\text{C}$ ) until analysis. Each product was prepared in duplicate.

### 2.3.2. Proximate analysis and pH

Moisture and ash content of the frankfurters were determined (AOAC, 2000) in quadruplicate. Fat content was evaluated (in duplicate) according to Bligh and Dyer (1959). Protein content was measured in quadruplicate by a Nitrogen Determinator LECO FP-2000 (Leco Corporation, St. Joseph, MI).

The pH was determined on a Radiometer model PHM 93 pH-meter (Meterlab, Copenhagen, Denmark) at room temperature on homogenates of frankfurters (and pork backfat) in water in a ratio 1:10 (w/v). Six determinations were performed for each formulation.

### 2.3.3. Emulsion stability, cooking loss and processing yield

Determination of emulsion stability of meat batters (in quadruplicate) was based on the procedure described previously. Emulsion stability, as total fluid release (TFR), was expressed as g/100 g of initial sample weight. Water release (WR) was determined as weight loss after heating the total released fluid for 16 h on a stove at  $105^\circ\text{C}$  and expressed as g/100 g of initial sample weight. Fat release (FR) was calculated as the difference between TFR and WR.

Cooking loss (CL) of frankfurters was calculated (in quadruplicate) as weight loss during heat treatment. Processing yield (PY) was calculated (in quadruplicate) as weight loss of frankfurters during heat treatment and after chilling at  $2^\circ\text{C}$  overnight. These parameters are expressed as % initial sample weight (before heating).

### 2.3.4. Colour measurement

Colour, CIE-LAB tristimulus values, lightness,  $L^*$ ; redness,  $a^*$  and yellowness,  $b^*$  of the cross-section of frankfurters were immediately evaluated on a Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Business Technologies, Inc., Tokyo, Japan). Eight determinations were performed from each formulation.

### 2.3.5. Texture Profile Analysis

Texture Profile Analysis (TPA) was performed in a TA-XT plus Texture Analyzer (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY) as described by Bourne (1978). Six frankfurter cores (diam = 22 mm, height = 20 mm) were axially compressed to 40% of their original height. Force–time deformation curves were obtained with a 5 kN load cell, applied at a crosshead speed of 1 mm/s. Attributes were calculated as follows: hardness (Hd) = peak force (N) required for first compression; cohesiveness (Ch) = ratio of active work done under the second compression curve to that done under the first compression curve (dimensionless); springiness (Sp) = distance (mm) the sample recovers after the first compression; adhesiveness (Ad) = area under the abscissa after the first compression ( $\text{N} \times \text{s}$ ); and chewiness (Cw) =  $\text{Hd} \times \text{Ch} \times \text{Sp}$  ( $\text{N} \times \text{mm}$ ). Measurement of samples was carried out at room temperature.

**Table 2**

Formulation (g) of frankfurters made with pork backfat and different olive oil-in-water emulsions.

Samples	Meat	Pork backfat	Olive oil-in-water emulsion					Water
			O/SC	O/SPI	O/SC + MTG	O/SC + MTG + MS	O/SPI + SC + MTG	
Control	1020	248.7	–	–	–	–	–	196.6
F/SC	1050	–	375	–	–	–	–	40.3
F/SPI	1050	–	–	375	–	–	–	40.3
F/SC + MTG	1050	–	–	–	375	–	–	40.3
F/SC + MTG + MS	1050	–	–	–	–	375	–	40.3
F/SPI + SC + MTG	1050	–	–	–	–	–	375	40.3

The following were also added to all samples: 2.0 g/100 g NaCl; 0.30 g/100 g STP; 0.012 g/100 g sodium nitrite.

**Table 3**  
Penetration test parameters of olive oil-in-water emulsions.

Samples	Distance (mm)	Slope (N/mm)	Penetration force (N)	Gel strength (J)
O/SC	10.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.001 ± 0.000 <sup>a</sup>	0.02 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>a</sup>
O/SPI	10.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.012 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.86 ± 0.08 <sup>b</sup>
O/SC + MTG	8.96 ± 0.90 <sup>b</sup>	0.045 ± 0.009 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.06 <sup>c</sup>	3.22 ± 0.55 <sup>cd</sup>
O/SC + MTG + MS	9.97 ± 0.89 <sup>b</sup>	0.026 ± 0.003 <sup>c</sup>	0.36 ± 0.02 <sup>d</sup>	2.84 ± 0.54 <sup>c</sup>
O/SPI + SC + MTG	6.24 ± 0.64 <sup>c</sup>	0.085 ± 0.006 <sup>d</sup>	0.74 ± 0.07 <sup>e</sup>	3.38 ± 0.67 <sup>d</sup>

For oil-in-water emulsion formulation and denomination see Table 1. Means ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

### 2.3.6. Microstructure

Microstructure was analysed by scanning electron microscopy (SEM) according to Jiménez-Colmenero et al. (1995b) with modifications. The frankfurters were fixed with a mixture (1:1 v/v) of paraformaldehyde (4 g/100 g) and glutaraldehyde (0.2 g/100 g) in 0.1 M phosphate buffer pH 7.2, post-fixed with  $\text{OsO}_4$ , washed, dehydrated in increasing concentrations of acetone, critical-point-dried, sputter-coated with gold/palladium in a metallizer (Blazer, SCD004) and scanned by SEM (Jeol, JSC 6400, Akishima, Tokyo, Japan) at 20 kV. A large number of micrographs were taken in order to select the most representative ones.

### 2.3.7. Sensory analysis

Sensory evaluation was carried out by consensus with assessors familiar with the fundamentals and principles of sensory analysis. Sensory evaluation was performed by 12 panellists selected from the staff of the research centre. Several preliminary sensory analysis sessions were conducted, based upon previous schemes designed for frankfurters (López-López et al., 2009a) and observations of the parameters that changed with formulation. After that, a sensory analysis scheme was developed for the frankfurter analysed in the present work, with the following parameters: general appearance, taste, texture, juiciness, and general acceptability. Points were awarded on a scale of 0 to 10 as follows: dislike/like for general appearance; uncharacteristic/characteristic for taste; very soft/very hard for texture; and dislike/like for general acceptability. Frankfurters from each lot were first cut into pieces of about 3 cm, placed on plates then covered and tempered in a microwave oven for 10 s (serving temperature 40–43 °C). Then they were presented to the panel for evaluation.

### 2.4. Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA one-way) was carried out in order to evaluate the statistical significance ( $P < 0.05$ ) of the effect of both olive oil-in-water emulsion formulation and frankfurter formulation. The normal distribution of samples was checked using the Shapiro–Wilks test. When samples fitted the normal distribution, one-way ANOVA analysis was performed. The F-test in the one-way ANOVA analysis indicated any significant differences amongst the means. The Kruskal–Wallis test was used to test samples that did not fit the normal

distribution. Statistical analysis was performed using SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill., U.S.A.).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Olive oil-in-water emulsions characteristics

Since the oil-in-water emulsions were to be used to prepare the frankfurters, their thermal properties and texture were measured. All oil-in-water emulsions presented excellent fat and water binding properties, with no noticeable release of exudate after heating. Similar results have been reported by Gonzalo-Pando et al. (2010) for emulsions prepared with combinations of plant and marine oils. Thanks to the high thermal stability of olive oil-in-water emulsions, which is a useful technological characteristic for purposes of cooked meat product formulation, no appreciable changes in water and fat binding properties were observed as a function of the emulsified olive oil stabilizing system. Although oil-in-water emulsions stabilized with SC and SPI have been widely used in the reformulation of many cooked and fermented meat products respectively (Jiménez-Colmenero, 2007), there have been no studies on thermal stability for purposes of use in meat products. O/SC emulsion had the highest ( $P < 0.05$ ) pH (7.71), while the rest of the emulsions had similar pH ( $P > 0.05$ ), ranging between 7.4–7.5.

The penetration test results (Table 3) differentiate several types of behaviour in olive oil-in-water emulsions. In sample O/SC, plunger penetration did not produce a breaking point, and this sample presented the lowest ( $P < 0.05$ ) slope, PF and GS values; in that case the system behaved like a viscous material but lacked a gel structure (gel-like behaviour). In O/SPI emulsion there was again no breaking point, although PF and GS values were higher ( $P < 0.05$ ) than in O/SC emulsion (Table 3); O/SPI emulsion would therefore appear to present gel-like characteristics, if very weak ones. The emulsions containing MTG in the stabilizing protein system behaved quite differently (Table 3), with plunger penetration producing a breaking point characteristic of a gel structure. Of these emulsions O/SPI + SC + MTG presented the lowest ( $P < 0.05$ ) breaking distance (maximum elasticity) and the highest ( $P < 0.05$ ) slope and PF.

Because transglutaminase interacts with some proteins, it has been used to help stabilize emulsions made with SC and SPI (Muguruma et al., 2003; Lee et al., 2006). Caseinate forms cross-links by means of transglutaminase-forming polymers (Kurth & Rogers, 1984; Siu, Ma & Mine, 2002; Muguruma et al., 2003). Cross-linking soy bean protein and casein by transglutaminase improves the heat stability and emulsifying properties of biopolymers (Muguruma et al., 2003). This type of interaction may have contributed to the fact that the emulsions prepared with MTG in the stabilizing system were stiffer and more elastic than the ones prepared only with SC or SPI (Table 3). Similar results have been reported by Gonzalo-Pando et al. (2010). On the other hand, it has been shown that MTG produces crosslinking of meat proteins. Soluble myofibrillar proteins serve as a good substrate for crosslinking reactions with MTG (Kuraishi, Sakamoto, Yamazani, Susa, Kuhara & Soeda, 1997), facilitating interactions between meat protein

**Table 4**  
Proximate analysis (%) and pH of frankfurters formulated with pork backfat and different olive oil-in-water emulsions.

Samples	Moisture	Protein	Fat	Ash	pH
Control	60.60 ± 0.08 <sup>a</sup>	16.97 ± 0.17 <sup>a</sup>	19.62 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.97 ± 0.03 <sup>a</sup>	5.94 ± 0.03 <sup>a</sup>
F/SC	62.34 ± 0.04 <sup>a</sup>	18.31 ± 0.29 <sup>bc</sup>	16.82 ± 0.17 <sup>b</sup>	3.01 ± 0.02 <sup>a</sup>	6.06 ± 0.01 <sup>bc</sup>
F/SPI	61.61 ± 0.05 <sup>a</sup>	17.83 ± 0.25 <sup>b</sup>	18.08 ± 0.19 <sup>c</sup>	2.97 ± 0.03 <sup>a</sup>	6.03 ± 0.01 <sup>b</sup>
F/SC + MTG	61.96 ± 0.08 <sup>a</sup>	18.02 ± 0.14 <sup>bc</sup>	18.28 ± 0.47 <sup>c</sup>	3.02 ± 0.14 <sup>a</sup>	6.11 ± 0.01 <sup>d</sup>
F/SC + MTG + MS	61.64 ± 0.14 <sup>a</sup>	18.38 ± 0.13 <sup>c</sup>	17.40 ± 0.26 <sup>bc</sup>	2.95 ± 0.15 <sup>a</sup>	6.09 ± 0.01 <sup>cd</sup>
F/PSI + SC + MTG	61.48 ± 0.15 <sup>a</sup>	18.25 ± 0.01 <sup>bc</sup>	18.16 ± 0.40 <sup>c</sup>	3.05 ± 0.00 <sup>a</sup>	6.06 ± 0.01 <sup>bc</sup>

Control frankfurter was prepared with pork backfat; the other samples were formulated with an oil-in-water emulsion as reported in Table 2. Means ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).



and caseinate molecules (Kurth & Rogers, 1984) and promoting the formation of a much more stable gel matrix at low temperatures. Meat proteins were therefore included as a component of the mixture used in the emulsion stabilizing systems (O/SC + MTG + MS) in order to modify the oil-in-water emulsion properties (Gonzalo-Pando et al., 2010). The penetration test result indicated that the incorporation of meat protein to an emulsion stabilizing system does not promote biopolymer formation (through MTG) since O/SC + MTG + MS emulsion presented a lower ( $P < 0.05$ ) PF and slope than O/SC + MT although distance to breaking point and gel strength were similar ( $P > 0.05$ ) (Table 3).

### 3.2. Frankfurter characteristics

#### 3.2.1. Proximate analysis and pH

Control and modified frankfurters presented some differences in proximate analysis (Table 4) and all were consistent with product formulation (Table 2). There were no differences ( $P > 0.05$ ) in the moisture content (range from 60.6 to 62.3%) of the different formulations. This is consistent with the fact that the amount of added water (as added water or already present in meat, pork backfat and emulsions) was similar in all the products (Tables 1 and 2). No differences were observed in ash content (ranging between 2.95 and 3.05%). Some differences were observed in protein and fat contents. All sausages contained very similar protein levels (17–18%) except control frankfurter which had the lowest value ( $P < 0.05$ ). Sausages were formulated with the same target muscle protein, so that while the protein in the control frankfurter was from meat raw material (meat and pork backfat), the other samples in addition contained the non-meat proteins used to stabilize the olive oil emulsions (Table 2).

Fat content was generally close to the target level, ranging between 19.6% and 16.8% (Table 4), with the highest ( $P < 0.05$ ) value in the control sample (all pork fat). When pork backfat was totally replaced by oil-in-water emulsion (containing 52% olive oil), samples had around 13 g of olive oil per 100 g of product; given its fatty acid profile, this means a considerable increase in the proportion of MUFA. Improved lipid content has been reported in low-fat frankfurters induced by incorporation of olive oil (Paneras & Bloukas, 1994; Paneras et al., 1998). Olive oil made up almost 70% of the fat content of the modified frankfurters, the rest being the animal fat from the pork. Caloric content of sausages (based on 9 kcal/g for fat and 4 kcal/g for protein) was around 225–245 kcal/100 g, of which around 70% was supplied by fat. In the case of the control, all of that percentage was supplied by pork fat, whereas in the modified frankfurters the animal fat supplied only 20% and the other 50% was supplied by the olive oil.

It has been suggested that foods which are strategically or naturally enriched with healthier fatty acids can be used to achieve desired biochemical effects without the intake of supplements or changes in dietary habit. For this reason partial substitution of pork backfat by olive oil has been tried in frankfurters (Paneras & Bloukas, 1994; Bloukas et al., 1997; Paneras et al., 1998; Pappa et al., 2000; Lurueña-Martínez et al., 2004; López et al., 2009a; López-López et al., 2009b). In these cases less than 7 g of olive oil was added per 100 g of product, which is just under half of the amount used in our experiment (13 g/100 g product). In meat

based gel/emulsion products like frankfurters, the purpose of replacing animal fat with olive oil has been essentially to produce low-fat formulations, and consequently such high proportions of olive oil as in the present case have not been practical (Jiménez-Colmenero, 2007). However, one fundamental requirement of the development of a healthier lipid formulation with a view to potential health benefits is that the lipid content and profile be optimum. It is after all desirable for products to contain sufficient concentrations of these beneficial compounds to make a serious contribution to recommended intake levels when the food is consumed in normal quantities. Then again, dietary models suggest that MUFA should be the majority dietary fatty acids (WHO, 2003), so that when MUFA are the predominant fatty acids the total fat intake is not substantial and need not be limited (López-Miranda et al., 2006). The design of the modified frankfurters reported in this experiment was therefore especially appropriate in that respect.

The pH values in the control sausages were lower ( $P < 0.05$ ) than in any of the modified products (Table 4). The pork backfat used in the control formulation had a lower ( $P < 0.05$ ) pH ( $5.96 \pm 0.10$ ) than the olive oil-in-water emulsions. Although significant in some cases, the differences in pH among the modified frankfurters were quantitatively very small (0.08 pH unit) (Table 4).

#### 3.2.2. Emulsion stability, cooking loss and processing yield

All samples presented good emulsion stability (Table 5), with 2.6% TFR in control sample and generally lower ( $P < 0.05$ ) in the modified products (ranging between 0.66–1.7%). Most of the TFR was water, and the two parameters (TFR and WR) presented similar behaviour. Heating produced low levels of FR in meat batters, although these were higher ( $P < 0.05$ ) in the case of the controls and of sample F/SPI + SC + MTG (Table 5) than in the others samples.

Replacement of pork backfat by oil-in-water emulsion had no effect on cooking loss or processing yield in the different sausages, and the values indicated good thermal behaviour in the meat systems (Table 5). Lower PY (range 80–87%) have been reported in frankfurters with vegetable oils (Marquez, Ahmed, West & Johnson, 1989; Bloukas & Paneras, 1993; Bloukas et al., 1997; Paneras & Bloukas, 1994). In general we may say that all the samples had reasonably good fat and water binding properties, although replacement of pork backfat with oil-in-water emulsion improved emulsion stability (Table 5). This effect may be related to the lower protein content in the control (Table 4). Weight loss during thermal processing was found to be proportional to the protein/fat ratio (Mittal & Blaisdell, 1983). Generally no important quantitative variations in fat and water binding properties were observed as a function of the emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. As noted earlier, these kinds of oil-in-water emulsions have excellent thermal stability, which accounts for the good binding properties of the meat matrix.

#### 3.2.3. Colour measurement

Frankfurter colour was affected by formulation (Table 6). Control sample (all pork fat) had the lowest ( $P < 0.05$ ) values of  $L^*$ , although they were comparable ( $P > 0.05$ ) to F/SC and F/SPI + SC + MTG

**Table 5**  
Emulsion stability (total fluid release – TFR, water released – WR and fat released – FR). Cooking loss (CL) and processing yield (PY) of product formulated with pork backfat and different olive oil-in-water emulsions.

Samples	TFR (%)	WR (%)	FR (%)	CL (%)	PY (%)
Control	$2.65 \pm 0.80^a$	$2.43 \pm 0.75^a$	$0.22 \pm 0.05^a$	$8.89 \pm 1.39^a$	$89.80 \pm 1.20^a$
F/SC	$0.95 \pm 0.18^{bc}$	$0.86 \pm 0.16^b$	$0.09 \pm 0.02^{bc}$	$8.94 \pm 0.56^a$	$90.49 \pm 0.46^a$
F/SPI	$0.72 \pm 0.22^{bc}$	$0.65 \pm 0.20^b$	$0.07 \pm 0.03^b$	$9.31 \pm 0.36^a$	$90.23 \pm 0.45^a$
F/SC + MTG	$1.08 \pm 0.28^{bc}$	$0.99 \pm 0.25^b$	$0.09 \pm 0.03^b$	$8.24 \pm 0.57^a$	$90.74 \pm 1.16^a$
F/SC + MTG + MS	$0.66 \pm 0.21^b$	$0.59 \pm 0.20^b$	$0.07 \pm 0.01^b$	$8.58 \pm 0.42^a$	$91.00 \pm 0.42^a$
F/SPI + SC + MTG	$1.70 \pm 0.78^{ac}$	$1.53 \pm 0.73^{ab}$	$0.17 \pm 0.05^{ac}$	$8.47 \pm 0.23^a$	$90.96 \pm 0.71^a$

Control frankfurter was prepared with pork backfat; the other samples were formulated with an oil-in-water emulsion as reported in Table 2. Means  $\pm$  standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).



**Table 6**

Colour parameters ( $L^*$  lightness,  $a^*$  redness and  $b^*$  yellowness) of frankfurters formulated with pork backfat and different olive oil-in-water emulsions.<sup>1</sup>

Samples	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Control	73.41 ± 0.77 <sup>a</sup>	4.37 ± 0.24 <sup>a</sup>	8.81 ± 0.18 <sup>a</sup>
F/SC	74.33 ± 0.33 <sup>ab</sup>	2.96 ± 0.19 <sup>b</sup>	11.96 ± 0.16 <sup>bc</sup>
F/SPI	75.22 ± 0.58 <sup>b</sup>	3.82 ± 0.18 <sup>c</sup>	12.29 ± 0.16 <sup>b</sup>
F/SC + MTG	74.76 ± 0.81 <sup>b</sup>	3.25 ± 0.22 <sup>bd</sup>	12.02 ± 0.21 <sup>bc</sup>
F/SC + MTG + MS	74.84 ± 0.76 <sup>b</sup>	3.34 ± 0.17 <sup>d</sup>	11.85 ± 0.17 <sup>c</sup>
F/SPI + SC + MTG	74.01 ± 0.76 <sup>ab</sup>	3.24 ± 0.15 <sup>bd</sup>	11.88 ± 0.28 <sup>c</sup>

Means ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> Control frankfurter was prepared with pork backfat; the other samples were formulated with an oil-in-water emulsion as reported in Table 2.

products. Replacement of pork backfat with oil-in-water emulsion increased ( $P < 0.05$ )  $b^*$  values and reduced ( $P < 0.05$ ) redness. This behaviour may be related to the difference in colour between the pork backfat ( $L^*$  74.0,  $a^*$  3.3 and  $b^*$  5.3) and the oil-in-water emulsions (ranges  $L^*$ , 86.4–87.3;  $a^*$ , −3.7 to −4.7;  $b^*$  21.1–21.6), which present a more yellowish-green shade due to the olive oil. Marquez et al. (1989) found that lightness of frankfurter was affected by fat content. Bishop et al. (1993) observed that pre-emulsifying fats increased lightness and reduced redness in bologna, just as we found in this experiment.

### 3.2.4. Texture Profile Analysis

Textural properties of frankfurters were affected by replacement of pork backfat with oil-in-water emulsion and by the type of olive oil-in-water emulsion used in the formulation (Table 7). Generally, frankfurters made with any of the different oil-in-water emulsions presented higher ( $P < 0.05$ ) hardness, cohesiveness and chewiness and lower ( $P < 0.05$ ) adhesiveness than control (all pork fat) frankfurters. Springiness of control samples was similar ( $P > 0.05$ ) to F/SC, but lower ( $P < 0.05$ ) than the other samples. It is important to note that since composition (including muscle protein content) was very similar, the differences in textural properties between frankfurters (Table 7) must be determined mainly by the characteristics of each type of oil-in-water emulsion and its role in the meat protein matrix. Frankfurters with oil-in-water emulsion containing caseinate (F/SC) or soy protein (F/SPI) presented similar ( $P > 0.05$ ) hardness and chewiness, but samples with soy protein (F/SPI) presented higher ( $P < 0.05$ ) springiness and cohesiveness (Table 7). The addition of transglutaminase to oil-in-water emulsions produced a significant increase of hardness, cohesiveness and chewiness (F/SC + MTG + MS, F/SC + MTG, F/SPI + SC + MTG). This behaviour seems likely to be a consequence of the role of MTG in stabilizing the emulsion (Gonzalo-Pando et al., 2010) as discussed earlier (Table 3). Muguruma et al. (2003) reported that addition of transglutaminase-modified proteins (soy bean protein and casein) in a sausage mixture improved sausage texture (increased breaking stress).

Frankfurters in which pork backfat was replaced with O/SC + MTG + MS emulsion (F/SC + MTG + MS) presented higher ( $P < 0.05$ ) hardness and chewiness than the ones formulated only with caseinate and microbial transglutaminase as an emulsion stabilizing system (F/SC +

MTG sausage) (Table 7); this behaviour was different from that observed when comparing penetration parameters of these oil-in-water emulsions (Table 3). Frankfurters in which the oil-in-water emulsion was stabilized with a combination of caseinate, soy protein and MTG (F/SPI + SC + MTG) presented the highest ( $P < 0.05$ ) hardness and chewiness. This is logical since this type of oil-in-water emulsion presented the greatest penetration force and gel strength (Table 3). This combination was used since both proteins are good substrates for MTG (Lee et al., 2006). The textural properties observed in frankfurters suggest that these water oil emulsions have considerable potential to influence the characteristics of different cooked meat products.

### 3.2.5. Electron microscopy

The morphology of the control sausages (Fig. 1a) was characteristic of cooked gel/emulsion systems (Katsaras & Peetz, 1989; Cavestany, Jiménez, Solas & Carballo, 1994; Carballo et al., 1996). This was the result of aggregation of the protein matrix, which lost continuity and exhibited irregular denser formations, producing structures with a spongy (honeycomb-like) appearance. The microstructure showed numerous cavities (mostly oval), which were larger than in all the other samples (Fig. 1a–f). The formation of these cavities may have been due to expansion of a number of constituents, mainly fat, water or air (Katsaras & Peetz, 1989; Cavestany et al., 1994; Carballo et al., 1996).

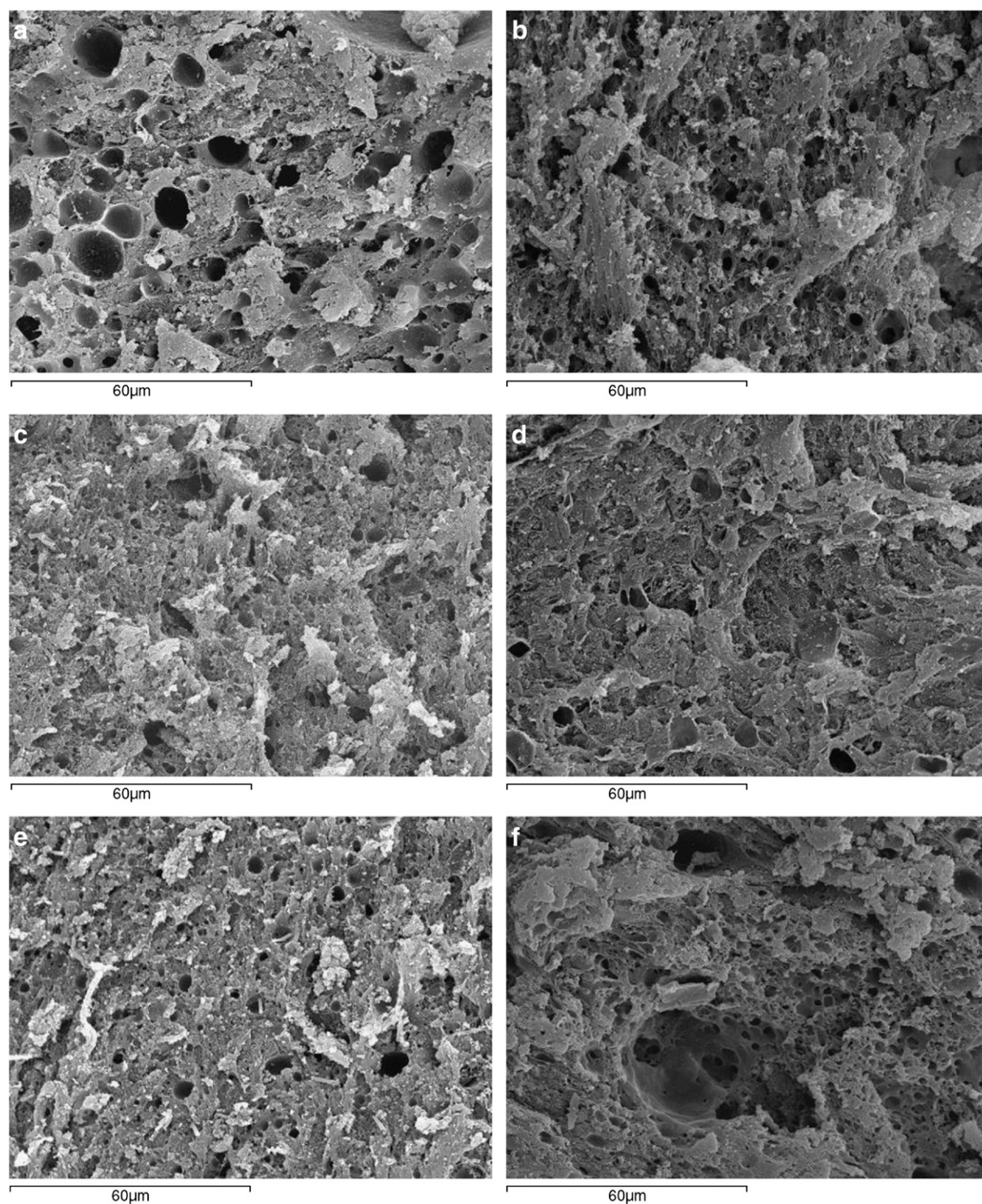
When pork backfat is replaced by oil-in-water emulsion, the matrix generally becomes disorganized and loses some of its spongy appearance. This is particularly apparent in samples F/SC and F/SPI (Fig. 1b–c), which present considerable changes in the nature of the protein matrix and very few cavities. The microstructure of samples formulated with oil-in-water emulsions stabilized using MTG (Fig. 1d–f) revealed more of a spongy structure (as compared with F/SC and F/SPI), with more cavity formation but was clearly morphologically different (generally smaller) from the control. This behaviour may be a consequence of differences in the physicochemical characteristics of emulsions (Table 3). Thus, when O/SC and O/SPI emulsions are incorporated into meat batters during chopping (in frankfurter manufacture) this promotes greater dispersion of the lipid phase, with smaller particles well embedded in the protein matrix. That effect was less pronounced in the emulsions formulated with MTG, a difference reflected in the morphological characteristics of the frankfurters, as noted, and the resulting products were harder and chewier (Table 7) although there was no clear effect on release of fat and water during cooking (Table 5). It has been established that morphological and textural properties of gel/emulsion systems are related, and that changes in the “effective” concentration of the protein involved in forming the gel/emulsion matrix produce a considerable effect as a result of fat and moisture changes in product formulations (Cavestany et al., 1994; Carballo et al., 1996). Since all the frankfurters had very similar compositions (Table 4), other factors associated with the nature of the matrix and dependent on meat batter characteristics must be implicated in the morphology–texture relationship (Carballo et al., 1996), in these cases influenced by the physicochemical characteristics of the new lipid materials used in frankfurter preparation.

**Table 7**

Textural profile analysis (TPA) of frankfurters formulated with pork backfat and different olive oil-in-water emulsions.

Samples	Hardness (N)	Springiness (mm)	Cohesiveness (dimensionless)	Adhesiveness (N × s)	Chewiness (N × mm)
Control	41.1 ± 1.8 <sup>a</sup>	7.20 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.00 <sup>a</sup>	−0.54 ± 0.05 <sup>a</sup>	213.3 ± 9.4 <sup>a</sup>
F/SC	43.3 ± 1.1 <sup>b</sup>	7.30 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.73 ± 0.00 <sup>a</sup>	−0.27 ± 0.09 <sup>b</sup>	230.3 ± 5.7 <sup>b</sup>
F/SPI	43.7 ± 1.5 <sup>b</sup>	7.41 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.75 ± 0.00 <sup>b</sup>	−0.29 ± 0.06 <sup>b</sup>	242.6 ± 10.0 <sup>b</sup>
F/SC + MTG	47.0 ± 1.7 <sup>c</sup>	7.39 ± 0.04 <sup>bc</sup>	0.74 ± 0.00 <sup>b</sup>	−0.27 ± 0.04 <sup>b</sup>	257.8 ± 9.2 <sup>bc</sup>
F/SC + MTG + MS	50.4 ± 1.1 <sup>d</sup>	7.37 ± 0.08 <sup>bc</sup>	0.74 ± 0.00 <sup>b</sup>	−0.26 ± 0.07 <sup>b</sup>	276.1 ± 5.1 <sup>d</sup>
F/SPI + SC + MTG	53.3 ± 1.2 <sup>e</sup>	7.36 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.75 ± 0.00 <sup>b</sup>	−0.23 ± 0.05 <sup>b</sup>	294.4 ± 12.4 <sup>e</sup>

Control frankfurter was prepared with pork backfat; the other samples were formulated with an oil-in-water emulsion as reported in Table 2. Means ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).



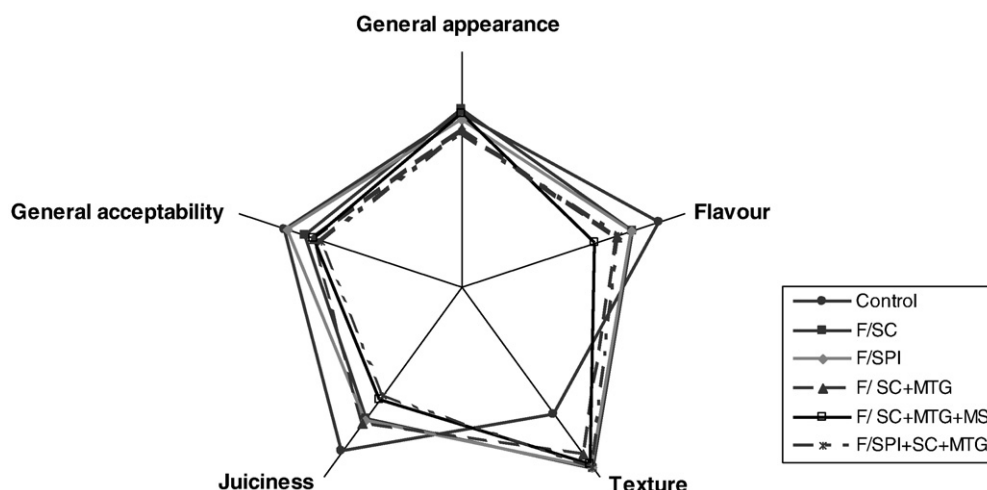
**Fig. 1.** Scanning electron micrograph of the different frankfurters: a) Control, b) F/SC, c) F/SPI, d) F/SC + MTG, e) F/SC + MTG + MS, f) F/SPI + SC + MTG. Frankfurter formulations and denominations are described in Table 2. Bar represents 60 µm.

The morphology of the frankfurters indicates that in these comminuted systems the characteristics of the continuous protein matrix and the fat globules are affected by the type of oil-in-water emulsions used in the product formulation; the effect on fat and water stabilization is similar but the textural behaviour is different. We have found no data in the literature referring to the morphological changes induced when pork backfat is replaced with olive oil-in-water emulsions (stabilized with different non-meat protein systems) and the consequences for the meat matrix in gel/emulsion meat systems.

### 3.2.6. Sensory analysis

The sensory evaluation of the sausages is shown in Fig. 2. No changes ( $P > 0.05$ ) were observed in the general appearance of frankfurters as a function of formulation conditions. Flavour scores decreased where pork backfat was replaced by olive oil, although the decrease was only significant in the samples made with oil-in-water emulsion containing MTG. Except for F/SC + MTG + MS sausage (with the lowest score), all frankfurters prepared with olive oil-in-water emulsions were awarded similar scores for flavour. As compared with





**Fig. 2.** Sensorial analysis of the frankfurters: a) Control, b) F/SC, c) F/SPI, d) F/SC + MTG, e) F/SC + MTG + MS, f) F/SPI + SC + MTG. Frankfurter formulations and denominations are described in Table 2.

the control (all pork fat), texture scores increased ( $P < 0.05$ ) in frankfurters formulated with olive oil, although there were no significant differences in relation to the oil-in-water emulsion stabilizing system used. This finding is consistent with the fact that these frankfurters were harder and chewier (Table 7), although the panellists did not report the textural differences between formulations that were indicated by TPA. Partial substitution of animal fat by olive oil reduced ( $P < 0.05$ ) juiciness scores, except for sample F/SC + MTG whose score was similar ( $P > 0.05$ ) to the control sausage. General acceptability was not affected ( $P > 0.05$ ) by the formulation, except in the case of sample F/SPI + SC + MTG, where it was lower ( $P < 0.05$ ) than in the control. This effect may be related to the fact that sample F/SPI + SC + MTG scored higher for texture and lower for juiciness (Fig. 2). No differences in acceptability scores were observed in relation to the olive oil emulsion stabilizing system. Marquez et al. (1989) reported that sensory quality characteristics of beef frankfurters (20% fat content) were not affected by peanut oil. Bishop et al. (1993) reported no differences in flavour and overall acceptability scores between bologna with pre-emulsifying fats (corn oil) (15% fat content) and the control (28% fat). However, they did find that bologna containing additional water was juicier. Bloukas and Paneras (1993) reported that low-fat frankfurters (11% fat content) with olive oil had a similar flavour but were less palatable than the control (28% fat). Similarly, Paneras and Bloukas (1994) reported that low-fat frankfurters (10% fat) with directly-added olive, corn, sunflower or soybean oil were firmer and less juicy than the control (29%). In both cases these characteristics would have been influenced by the fat reduction. Paneras et al. (1998) found that a high fat control (26%) was less firm and juicy than low-fat frankfurters (10%) made with a combination of olive, cottonseed and soybean oils but scored the same for overall acceptability. Lurueña-Martínez et al. (2004) found no difference in sensory evaluation between the controls (20% fat) and low-fat frankfurters with olive oil (13% fat).

As compared with the control containing only animal fat, frankfurters in which pork backfat was replaced by olive oil were generally found to have less flavour and to be harder and less juicy. However, these differences were very slight, and all the frankfurters were awarded similar scores for general appearance and acceptability. Healthy products based on partial substitution of olive oil for animal fat reported in the literature generally differ clearly from the ones reported here, in two ways. On the one hand less (almost 50% less) olive oil was added, and on the other hand they were developed as low-fat products, which means that the fat content criteria for comparison of sensory properties are different (regular versus low-fat content). As a result, it is often difficult to assess whether the changes observed in such products are due to the amount or the type

of lipid material, or to both. Both are factors that influence the characteristics of meat products (Jiménez-Colmenero, Carballo & Cofrades, 2001).

#### 4. Conclusion

These results suggest that in frankfurter reformulation, partial replacement of animal fat (all pork backfat) by an olive oil-in-water emulsion stabilized with different non-meat protein systems (producing the same fat level) affects the physicochemical and morphological characteristics of the products. Healthier frankfurters with olive oil (irrespective of the oil emulsion stabilizing system used) were found to have good water and fat binding properties, with stronger structures but comparable general acceptability scores to frankfurters formulated with all pork fat. Oil-in-water emulsions whose emulsion characteristics have been improved by the formation of network structures can be used to modulate the properties of reformulated meat products. In this respect it is worth considering the possibility of adapting the type of oil-in water emulsion to the nature of the product (fresh, cooked, fermented). This technological option could offer attractive possibilities for the part of the meat industry interested in healthier lipid formulations.

#### Acknowledgments

This research was supported under projects AGL2007-61038/ALI and AGL2008-04892-CO3-01 of the Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I) and the Consolider-Ingenio 2010: CARNISENUSA (CSD2007-00016), Ministerio de Ciencia y Tecnología.

#### References

- Ambrosiadis, J., Varelziz, K. P., & Georgakis, S. A. (1996). Physical, chemical and sensory characteristics of cooked meat emulsion style products containing vegetable oils. *International Journal of Food Science and Technology*, 31(2), 189–194.
- AOAC (2000). *Official methods of analysis of AOAC International*, 17th edition. Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- Bishop, D. J., Olson, D. G., & Knipe, C. L. (1993). Pre-emulsified corn oil, pork fat, or added moisture affect quality of reduced fat bologna quality. *Journal of Food Science*, 58(3), 484–487.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.
- Bloukas, J. G., & Paneras, E. D. (1993). Substituting olive oil for pork backfat affects quality of low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, 58(4), 705–709.
- Bloukas, J. G., Paneras, E. D., & Fournitzis, G. C. (1997). Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 45(2), 133–144.
- Bourne, M. C. (1978). Texture Profile Analysis. *Food Technology*, 32(7), 62–65 72.

- Carballo, J., Fernández, P., Barreto, G., Solas, M. T., & Jiménez Colmenero, F. (1996). Morphology and texture of bologna sausage containing different levels of fat, starch and egg white. *Journal of Food Science*, 61(3), 652–655.
- Cavestany, M., Jiménez, Colmenero F., Solas, M. T., & Carballo, J. (1994). Incorporation of sardine surimi to bologna sausage containing different fat levels. *Meat Science*, 38(1), 27–37.
- Choi, Y. -S., Choi, J. -H., Han, D. -J., Kim, H. -Y., Lee, M. -A., Kim, H. -W., et al. (2009). Characteristics of low-fat emulsion systems with pork fat replaced by vegetable oils and rice bran fiber. *Meat Science*, 82(2), 266–271.
- Djordjevic, D., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2004). Oxidative stability of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions at pH 3: Potential  $\omega$ -3 fatty acid delivery systems (Part B). *Journal of Food Science*, 69(5), C356–C362.
- Gonzalo-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M., & Jiménez-Colmenero, F. (2010). Characteristics of oil (healthier lipid combination)-in-water emulsions prepared with various protein systems. An approach for the development of functional meat products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(7), 791–801.
- Hur, S. J., Jin, S. K., & Kim, I. S. (2008). Effect of extra virgin olive oil substitution for fat on quality of pork patty. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(7), 1231–1237.
- Jiménez Colmenero, F., Barreto, G., Mota, N., & y Carballo, J. (1995). Influence of protein and fat content and cooking temperature on texture and sensory evaluation of bologna sausage. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28(5), 481–487.
- Jiménez Colmenero, F., Carballo, J., & y Solas, M. T. (1995). The effect of use of freeze-thawed pork on properties of bologna sausage with two fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*, 30(3), 335–346.
- Jiménez Colmenero, F., Carballo, J., & y Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: Their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5–13.
- Jiménez-Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science & Technology*, 18(11), 567–578.
- Katsaras, K., & Peetz, P. (1989). Scanning electron microscopy in meat research. *Alimenta*, 28(6), 119–122.
- Kayaardi, S., & Gök, V. (2003). Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). *Meat Science*, 66(1), 249–257.
- Koutsopoulos, D. A., Koutsimanis, G. E., & Bloukas, J. G. (2008). Effect of carrageenan level and packaging during ripening on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages produced with olive oil. *Meat Science*, 79(1), 188–197.
- Kuraishi, C., Sakamoto, J., Yamazani, K., Susa, Y., Kuhara, C., & Soeda, T. (1997). Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. *Journal of Food Science*, 62(3), 488–490 515.
- Kurth, L., & Rogers, P. J. (1984). Transglutaminase catalyzed cross-linking of myosin to soy protein, casein and gluten. *Journal of Food Science*, 49(2), 573–576 589.
- Lee, H. A., Choi, S. J., & Moon, T. W. (2006). Characteristics of sodium caseinate- and soy protein isolate-stabilized emulsion-gels formed by microbial transglutaminase. *Journal of Food Science*, 71(6), C352–C357.
- López-López, I., Cofrades, S., & Jiménez-Colmenero, F. (2009). Low-fat frankfurters enriched with n-3 PUFA and edible seaweed: Effects of olive oil and chilled storage on physicochemical, sensory and microbial characteristics. *Meat Science*, 83(1), 148–154.
- López-López, I., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2009). Design and nutritional properties of potential functional frankfurters based on lipid formulation, added seaweed and low salt content. *Meat Science*, 83(2), 255–262.
- López-Miranda, J., Pérez-Martínez, P., & Pérez-Jiménez, F. (2006). Health benefits of monounsaturated fatty acids. In C. Williams, & J. Buttriss (Eds.), *Improving the fat content of foods* (pp. 71–106). Cambridge UK: CRC Press LLC and Woodhead Publishing Limited.
- Lurueña-Martínez, M. A., Vivar-Quintana, A. M., & Revilla, I. (2004). Effect of locust bean/xanthan gum addition and replacement of pork fat with olive oil on the quality characteristics of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 68(3), 383–389.
- Marquez, E. J., Ahmed, E. M., West, R. L., & Johnson, D. D. (1989). Emulsion stability and sensory quality of beef frankfurters produced at different fat and peanut oil levels. *Journal of Food Science*, 54(4), 867–870 873.
- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M. W., Bonham, M. P., et al. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84(1), 1–13.
- Mittal, G. S., & Blaisdell, J. L. (1983). Weight loss in frankfurters during thermal processing. *Meat Science*, 9(2), 79–88.
- Muguruma, M., Tsuruoka, K., Katayama, K., Erwanto, Y., Kawahara, S., Yamauchi, K., et al. (2003). Soybean and milk proteins modified by transglutaminase improves chicken sausage texture even at reduced levels of phosphate. *Meat Science*, 63(2), 191–197.
- Paneras, E. D., & Bloukas, J. G. (1994). Vegetable oils replace pork backfat for low-fat frankfurters. *Journal Food Science*, 59(4), 725–728 733.
- Paneras, E. D., Bloukas, J. G., & Filis, D. G. (1998). Production of low-fat frankfurters with vegetable oils following the dietary guidelines for fatty acids. *Journal of Muscle Foods*, 9(2), 111–126.
- Pappa, I. C., Bloukas, J. C., & Arvanitoyannis, I. S. (2000). Optimization of salt, olive oil and pectin for low-fat frankfurters produced by replacing pork backfat with olive oil. *Meat Science*, 56(1), 81–88.
- Roesch, R. R., & Corredig, M. (2002). Characterization of oil-in-water emulsions prepared with commercial soy protein concentrate. *Journal of Food Science*, 67(8), 2837–2842.
- Siu, N. C., Ma, C. Y., & Mine, Y. (2002). Physicochemical and structural properties of oat globulin polymers formed by a microbial transglutaminase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(9), 2660–2665.
- Vural, H., Javidipour, I., & Ozbas, O. O. (2004). Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fiber on the quality of frankfurters. *Meat Science*, 67(1), 65–72.
- Waterman, E., & Lockwood, B. (2007). Active components and clinical applications of olive oil. *Alternative Medicine Review*, 12(4), 331–342.
- WHO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases *Technical report series*, 916, Geneva: WHO.
- Williamson, C. S., Foster, R. K., Stanner, S. A. Y., & Buttriss, J. L. (2005). Red meat in the diet. *Nutrition Bulletin*, 30, 323–355.



**4.2 Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia  
(*Salvia hispanica* L.) and cold gelling agents: technological  
and infrared spectroscopic characterization**

***Food Chemistry, 2015, 185, 470-478***





# Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica* L.) and cold gelling agents: Technological and infrared spectroscopic characterization



T. Pintado<sup>a</sup>, C. Ruiz-Capillas<sup>a</sup>, F. Jiménez-Colmenero<sup>a</sup>, P. Carmona<sup>b</sup>, A.M. Herrero<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC), José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, Spain

<sup>b</sup> Institute for the Structure of Matter (CSIC), Serrano 121, 28006 Madrid, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 6 May 2014

Received in revised form 4 March 2015

Accepted 9 April 2015

Available online 13 April 2015

### Keywords:

Chia  
Cold gelling agent  
Oil emulsion gel  
Structure  
Texture  
ATR-FTIR

## ABSTRACT

This paper reports on the development of olive oil-in-water emulsion gels containing chia (*Salvia hispanica* L.) (flour or seed) and cold gelling agents (transglutaminase, alginate or gelatin). The technological and structural characteristics of these emulsion gels were evaluated. Both structural and technological changes in emulsion gels resulting from chilled storage were also determined. The color and texture of emulsion gels depend on both the cold gelling agents used and chilled storage. Lipid oxidation increased ( $p < 0.05$ ) during storage in emulsion gels containing transglutaminase or alginate. Analyses of the half-bandwidth of the  $2923\text{ cm}^{-1}$  band and the area of the  $3220\text{ cm}^{-1}$  band suggest that the order/disorder of the oil lipid chain related to lipid interactions and droplet size in the emulsion gels could be decisive in determining their textural properties. The half-bandwidth of  $2923\text{ cm}^{-1}$  band and area of  $3220\text{ cm}^{-1}$  band did not show significant differences during chilled storage.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

In recent years there has been growing consumer interest in healthier meat derivatives in which animal fat is replaced by vegetable oil sources more in line with nutritional recommendations. A variety of non-meat fats of plant and marine origin have been used in product formulation (as non-meat ingredients) to partially replace meat fats (mainly pork or beef). However, novel strategies are needed for structuring edible oils as animal fat replacers with appropriate nutritional and technological properties to provide new meat derivatives with healthier quality characteristics. Structuring edible oils is a requirement for many food products and the use of emulsion gel is one of the promising options to explore in this regard.

An emulsion gel is defined as an emulsion with a gel-like network structure and solid-like mechanical properties (Dickinson, 2013). The initial stage in emulsion gel formulation usually involves producing a protein-stabilized emulsion. The formulation procedure may involve the incorporation of a hydrocolloid stabilizer during emulsification, or other ingredients (protein, polysaccharides, surfactant, etc.) after emulsion formation. The liquid-like emulsion is then converted into an emulsion gel either by

aggregation the emulsion droplets or by gelling the continuous phase. The structural state of an oil-in-water (O/W) emulsion gel has been described as a composite network based on a combination of aggregated emulsion droplets and cross-linked biopolymer molecules, this real structural state determining its textural properties (Dickinson, 2013).

Emulsion gels can be formulated in different ways, i.e. heat-set protein based emulsion gels, acid-induced emulsion gels and enzyme-induced emulsion gels (Dickinson, 2012). An interesting alternative to these processes could be the use of cold gelling agents based on polysaccharides and proteins which are able to establish polymer interactions, creating a continuous network responsible for the functional properties of emulsion gels. Additionally, the use of polysaccharides to complex with proteins has been explored to enhance emulsion stability (Lam & Nickerson, 2013). These systems offer interesting possibilities for the reformulation of fresh (uncooked) food processing strategies, including meat products. In this regard, alginate is a polysaccharide extracted from brown seaweed which is of particular interest due to its ability to form a gel structure in the form of the so-called “egg-box model” where sodium ion is replaced by a divalent cation such as calcium (Roopa & Bhattacharya, 2010). These gels consist of polymeric molecules cross-linked to form a three-dimensional macromolecular network containing a large water fraction in the structure, displaying mechanical rigidity (Roopa & Bhattacharya,

\* Corresponding author. Tel.: +34 915616800; fax: +34 91 5645557.

E-mail address: [ana.herrero@ictan.csic.es](mailto:ana.herrero@ictan.csic.es) (A.M. Herrero).



2010). In relation with the formation of emulsion gels with alginate, some authors have developed lemongrass oil nanoemulsions in aqueous sodium alginate solution containing Tween 80 as a non-ionic surfactant (Salvia-Trujillo, Rojas-Graue, Soliva-Fortuny, & Martín-Belloso, 2013) and gelled emulsions with alginate or gelatin (Sato, Moraes, & Cunha, 2014). Gelatin, a protein obtained by partial hydrolysis of collagen from animal tissue, can also offers interesting gel-forming properties at low temperatures similar to those of polysaccharides by forming a structural network with relatively higher gel strength (Sala, van Vliet, Stuart, van Aken, & van de Velde, 2009). The application of gelatin in emulsion gels has also been evaluated and the rheological properties of gelatin emulsion gels have been determined (Sala et al., 2009). Some authors have likewise studied the potential of gelatin-based emulsion gels for diffusion-controlled release applications (Thakur et al., 2012). However, relatively little research has been carried out to date on emulsion gels formed by enzymic cross-linking. Among these the use of transglutaminase-induced gels is therefore of interest. Microbial transglutaminase (MTG) is an enzyme of the class of transferases which modify the functional properties of protein in food systems such as solubility and hence gelation, emulsification, foaming, viscosity and water-holding capacity, which all depend on protein solubility (Camolezi Gaspar & Pedrosa de Góes-Favoni, 2015). Various oil-in-water emulsions containing a mixture of vegetable (olive and linseed) and fish oils and stabilized by protein systems and MTG have been studied (Delgado-Pando, Cofrades, Ruiz-Capillas, Solas, & Jiménez-Colmenero, 2010). The authors reported that MTG plays an important role in the protein matrix by inducing stiff, elastic structures through a cold-set gelling process. Some authors have development cold-set protein-stabilized emulsion gels using MTG and studied their application as carriers for lipid-soluble bioactive compounds (Yang, Liu, & Tang, 2013). Additionally, some investigations have reported that the use of MTG during the processing of emulsion gel products offers new opportunities for the development of improved textures in foods (Dickinson & Yamamoto, 1996).

Emulsion gel technology may be particularly suited to the design and development of healthier and functional foods. In this regard, both olive oil and chia derivatives offer interesting possibilities. Olive oil, already widely accepted and known for its pleasant flavor, contains antioxidants which prevent the oxidation process and have health benefits, including the reduction of major risk factors for cardiovascular disease such as lipoprotein profile, blood pressure, glucose metabolism and antithrombotic profile (Lopez-Miranda et al., 2006). Similarly, the use of healthier ingredients such as chia (*Salvia hispanica* L.) could offer promising possibilities due to their interesting technological properties and health-benefits. Their technological properties include high water-holding capacity, water absorption capacity and organic molecule absorption capacity, as well as sufficient emulsifying activity to provide high emulsion stability (Olivos-Lugo, Valdivia-López, & Tecante, 2010). Moreover, this ingredient has been investigated and recommended due to its lipid content, mainly high  $\alpha$ -linolenic fatty acid, protein, antioxidant and dietary fiber content, all of which have a positive and relevant effect on human health (Ayerza & Coates, 2011; Olivos-Lugo et al., 2010).

The properties of emulsion gels are the net result of complex interactions between the components which lead to their structural state. To understand their stability and behavior, their structural and technological characteristics must be analyzed and this understanding would help to improve the quality of the food to which they are added, in particular as an animal fat replacer in healthier meat-based food systems. Infrared spectroscopy, particularly Attenuated Total Reflectance (ATR)-FTIR spectroscopy, is useful here because it is a powerful, fast, and non-destructive analytical tool capable of providing analytical and structural

information on food components (Herrero, Carmona, Jiménez-Colmenero, & Ruiz-Capillas, 2010). For instance, in oil emulsion with proteins infrared spectroscopy has provided valuable structural information (Herrero, Carmona, Pintado, Jiménez-Colmenero, & Ruiz-Capillas, 2011; Lee, Lefèvre, Subirade, & Paquin, 2009).

In this context, the aim of this study was to develop oil-in-water (O/W) emulsion gels formulated with olive oil, two commercial chia derivatives (flour or seed) and different cold gelling agents (transglutaminase, alginate or gelatin) with appropriate technological and nutritional properties containing a variety of bioactive compounds. Additionally, ATR-FTIR was used to determine the structural characteristics of the emulsion gels formulated. Structural and technological properties changes of O/W emulsion gels occurring during chilled storage were also elucidated. The ultimate objective was to establish a relationship between the structural features of emulsion gels and their technological properties to evaluate their potential use, particularly as fat ingredients (i.e. animal fat replacers) in the manufacture of healthier food products such as healthier lipid meat products.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Chia (*S. hispanica* L.) flour and seed are commercially available from Primaria Premium Raw Materials, S. L. (Valencia, Spain) and ChiaSa, 2F, S. L. (Valencia, Spain), respectively. Both have a similar composition, with 22% protein, 31% fat and 30% dietary fiber content (according to information provided by the supplier), but with different characteristics (grain size, color, etc.) which could affect their behavior. The average dimensions of the chia seed were  $2.1 \pm 0.1$  mm (length),  $1.3 \pm 0.1$  mm (width) and  $0.8 \pm 0.1$  mm (thickness).

Other ingredients used were tetra-sodium pyrophosphate anhydrous and calcium sulfate (PanreacQuímica, S.A. Madrid Spain); sodium alginate (90% carbohydrates content) and cold soluble gelatin (84% of protein) 220/220 Bloom gelatin (TRADES, Barcelona, Spain); sodium caseinate (86.4% protein content) from ANVISA (Antonio Villoria, S.A., Madrid Spain) and microbial transglutaminase (MTG) (ACTIVA EB, Ajimoto Europe sales GmbH, Hamburg, Germany). According to supplier information, the enzyme was in a mixture containing 0.5% transglutaminasa, 60% caseinate and 39.5% maltodextrin, with standard transglutaminasa activity of approximately 100 U/g. The olive oil (CarbonellVirgen Extra, SOS Cuétara S.A., Madrid Spain) used contained 13% SFA, 75% MUFA and 8% PUFA (Delgado-Pando et al., 2010).

### 2.2. Preparation of olive oil-in-water (O/W) emulsion gels

Six different types of O/W emulsion gels were formulated as shown in Table 1. Three types of emulsion gels were prepared with stabilizer systems based on chia flour (CF) and a cold gelling agent: (1) MTG and caseinate (T) namely CFT; (2) sodium alginate, CaSO<sub>4</sub> and pyrophosphate (A) namely CFA; and (3) gelatin (G) namely CFG. In addition, three types of emulsion gels were prepared with stabilizer systems based on chia seeds (CS) and the same combination of ingredients: (1) MTG and caseinate (T) namely CST; (2) sodium alginate, CaSO<sub>4</sub> and pyrophosphate (A) namely CSA; and (3) gelatin (G) namely CSG.

The O/W emulsion gels were prepared by mixing chia flour or seed with the water for 45 s at high speed (approx. 5600 rpm), using a homogenizer (Thermomix™ 31, VorwerkEspaña M.S.L., S.C, Madrid, Spain). The remaining ingredients, except the olive oil, were then added depending on the cold gelling agent used

**Table 1**  
Formulation (%) of olive oil-in-water emulsion gels.

Samples	Chia		Cold gelling agent <sup>a</sup>						Water	Olive Oil
			T		A			G		
	Flour	Seed	MTG	Sodium caseinate	Alginate	CaSO <sub>4</sub>	Pyrophosphate	Gelatin		
CFT	5		1	1					41	52
CST		5	1	1					41	52
CFA	5				0.73	0.73	0.54		41	52
CSA		5			0.73	0.73	0.54		41	52
CFG	5							2	41	52
CSG		5						2	41	52

<sup>a</sup> Oil-in-water emulsion gels prepared with stabilizer systems based on chia flour (CF) and cold gelling agent such as: (1) microbial transglutaminase and caseinate (T), O/W emulsion gel namely CFT; (2) sodium alginate, CaSO<sub>4</sub> and pyrophosphate (A), sample namely CFA; and (3) gelatin (G), sample namely CFG. Oil-in-water emulsion gels prepared with stabilizer systems based in chia seeds (CS) and the same cold gelling agents: (1) T, O/W namely CST; (2) A, sample namely CSA; and (3) G, sample namely CSG.

(MTG and caseinate for cold gelling agent T; sodium alginate, CaSO<sub>4</sub> and pyrophosphate for cold gelling agent A; and gelatin for cold gelling agent G) and mixed for 15 s (at approx. 5600 rpm). The final mixture was mixed again for 3 min at approx. 5600 rpm with the gradual addition of olive oil to the mixture. Finally, each type of emulsion gel was placed in a metal container under pressure to compact it and prevent air bubbles from forming, and then stored in a chilled room at 2 °C for 24 h. Analyses were conducted at 0 and 13 days. Two kilograms were prepared of each type of emulsion gel in duplicate.

### 2.3. Proximate analysis

Moisture and ash contents were determined in triplicate in accordance with the AOAC (2005) procedure. Fat content was evaluated (in triplicate) according to Bligh and Dyer (1959). Protein content was measured in triplicate using a LECO FP-2000 Nitrogen Determinator (Leco Corporation, St Joseph, MI). The energy values of chia (flour and seeds), alginate, MTG and gelatin were provided by the supplier. These energy content values provided by the supplier and olive oil energy content ( $\times 9.1$  kcal/g) were used to calculate the energy content of the different emulsion gels.

### 2.4. Storage loss, thermal stability and pH

Storage loss or syneresis in O/W emulsion gels affected by chilling storage was determined (in triplicate) by weight difference (%) between initial and stored samples. Thermal stability, in terms of water and oil binding properties, of the samples was determined (in triplicate) (Herrero, Carmona, Jiménez-Colmenero, & Ruiz-Capillas, 2014). Samples were packed into hermetically sealed tubes which were then heated in a water bath for 30 min at 70 °C. They were then opened and left standing upside down (for 50 min) to release the separated fat and water onto a plate. Matrix stability, as total fluid release (TFR), was expressed as a % of initial sample weight.

The pH was determined using an 827 Metrohm pH-meter (MetrohmAG, Switzerland) on homogenates of samples in distilled water at a ratio of 1:10 w/v. For each sample, two homogenates were prepared of which two measurements were performed.

### 2.5. Color measurement

Color (CIE-LAB tristimulus values, lightness,  $L^*$ ; redness,  $a^*$  and yellowness,  $b^*$ ) was evaluated on a Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Business Technologies, Inc., Tokyo, Japan). Determinations were performed on cross-sections of the sample. Ten determinations were performed on each olive oil-in-water emulsion gel.

### 2.6. Lipid oxidation

Oxidative stability of O/W emulsion gels was evaluated by measuring change in thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The measurement procedure for TBARS was as follows: 5 g of each sample was homogenized to precipitate the protein in 35 ml of 7.5% trichloroacetic acid for 30 s at high speed in an Omnimixer homogenizer (Omni International, Waterbury CT, USA). The blender sample was filtered (Whatman No. 1) and 5 ml of the supernatant was mixed with 5 ml of 20 mM thiobarbituric acid; the solution was then kept in the dark for 20 h at  $20 \pm 1.5$  °C. The pink color that emerged was measured spectrophotometrically (Shimadzu UV-1800 spectrophotometer, Shimadzu Corporation, Japan) at 532 nm. A calibration curve was plotted with 1,1,3,3-tetraethoxypropane (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) to determine the malonaldehyde (MDA) concentration and results were expressed as mg MDA/kg of sample. TBAR determinations for each sample were performed in triplicate.

### 2.7. Penetration test

Penetration test was performed approximately 22 °C using a TA-Xt.plus Texture Analyzer (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY) with the Texture Exponent program. A load cell of 5 kg was employed. Penetration test was performed according to Herrero et al. (2011). Analysis was performed with a 4 mm diameter cylindrical stainless steel plunger at a velocity of 0.8 mm/s and force exerted at 10 mm. The textural parameters of each sample derived from their force–deformation curves were: (a) penetration force (PF, N) at the point of gel rupture and (b) gel strength (GS, J), defined as the area enclosed by the force–deformation curve at the point of gel rupture. Six measurements per sample were performed.

### 2.8. Attenuated Total Reflectance (ATR)-FTIR spectroscopy

#### 2.8.1. Spectroscopic measurements

The infrared spectra of each sample were recorded using the Perkin-Elmer Spectrum™ 400 spectrometer (Perkin Elmer Inc., Tres Cantos, Madrid) in mid-IR mode, equipped with an ATR (Attenuated Total Reflectance) sampling device containing diamond/ZnSe crystal. Measurements were performed at room temperature using approximately 25 mg of sample (without any previous sample preparation) placed on the surface of the ATR crystal and slightly pressed with a flat-tip plunger. Spectra were scanned in the 4000–650 cm<sup>−1</sup> wave number range with a scan speed of 0.20 cm/s and 8 accumulations at a resolution of 4 cm<sup>−1</sup>. Nine measurements were taken of each sample. Sums of three spectra (24 accumulations) were performed. Three sum spectra were analyzed for each type of O/W emulsion gel. A background

spectrum was scanned under the same instrumental conditions before each series of measurements.

### 2.8.2. Data analysis

Spectra were acquired with Spectrum software version 6.3.2 and spectral data were processed with the Grams/AI version 9.1 (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA) software.

In order to eliminate any spectral influence of water in the CH stretching band (3000–2800  $\text{cm}^{-1}$  region), the appropriate spectra of each stabilizer system (chia + alginate [A], chia + MTC + SC [T] and chia + gelatin [G]) in aqueous dissolution without olive oil for both chia flour and seed were subtracted from emulsion gel spectra using the 2125  $\text{cm}^{-1}$  association band of water as an internal intensity standard (Herrero et al., 2011). The half-bandwidth of the 2923 ( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ ) and 2854 ( $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$ )  $\text{cm}^{-1}$  bands of the resulting difference spectra were measured.

### 2.9. Statistical analysis

One-way analyses of variance (ANOVA) to evaluate the statistical significance ( $p < 0.05$ ) of the effect of O/W emulsion gels formulation and two-way ANOVA as a function of formulation and storage time were performed using SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill., U.S.A.). Least squares differences were used for comparison of mean values between formulations and Tukey's HSD test to identify significant differences ( $p < 0.05$ ) between formulations and storage times. In addition, Pearson product moment correlation ( $R$ ) was performed to determine the relationships between each parameter of the different analyses. This statistical analysis was done with Statgraphics Plus version 5.0. (Inc., Chicago, USA).

## 3. Results and discussion

Different olive oil stabilizer systems based on a combination of chia flour and seed with several cold gelling agents (alginate, gelatin and MTG) in various concentrations were assayed to determine the best conditions from a technological standpoint for the production of O/W emulsion gels that could be used as animal fat replacers based on previous results obtained in our laboratory (Delgado-Pando et al., 2010; Herrero et al., 2011, 2014; Jiménez-Colmenero, Herrero, Pintado, Solas, & Ruiz-Capillas, 2010; Jiménez-Colmenero et al., 2012). On the basis of these criteria, we chose six different types of O/W emulsion gels, formulated as shown in Table 1.

Samples were stored in a chilled room at 2 °C for 13 days, using a longer period than expected for food application ingredients. It must be considered that for a number of reasons including economics, organization of production tasks and safety, these perishable ingredients need to be stored for as short a time as possible.

### 3.1. Proximate analysis

Proximate analyses generally had showed differences from one sample to another and all were consistent with product

formulation. Olive oil-in-water emulsion gels composition is shown in Table 2. Moisture contents ranged from 40.0% to 42.3% but no clear effect was observed linked to the type of emulsion gel systems used (Table 2). Ash contents were higher ( $p < 0.05$ ) in samples containing alginate (CFA and CSA) due to the salt added for alginate gelification (Table 1). Protein content was affected ( $p < 0.05$ ) by formulation (Table 2). As expected, protein based gelification (MTG and gelatin) had higher protein content ( $p < 0.05$ ) than that prepared with alginate (Table 1). While for CFA and CSA samples all protein content was from chia, the other samples also contained caseinate (CFT, CST) or gelatin (CFG and CSG). In these samples, approximately 38–44% and 55–62%, respectively of total protein was from chia (Table 1). Fat content was close to the target level, between 53.0% and 54.5%, with no differences between samples (Table 2). In terms of sample preparation, these fat replacers contained approximately 52 g of olive oil and 1.6 g of chia oil per 100 g. Given their fatty acid profile, this implies considerable MUFA and  $n-3$  PUFA content. Taking the fatty acid profile of olive (Delgado-Pando et al., 2010), and chia oils (Ayerza & Coates, 2004), 100 g of these fat replacers contain approximately 38 g of MUFA (37 g oleic acid) and 0.97 g of linolenic acid.

The energy content of these emulsion gels ranged from 497 to 505 kcal/100 g, more than 9% supplied by olive and chia sources, of which MUFA provided nearly 70%. The use of these emulsion gels as a pork backfat animal fat replacer in the formulation of healthier meat products would allow a reduction of approximately 37% energy content, considering that the approximate energy content of pork backfat is about 802.5 kcal/100 g depending on its composition (Jiménez-Colmenero et al., 2012).

### 3.2. Storage loss and thermal stability

There was not noticeable syneresis or exudate release caused by formulation or chilled storage time in any of the olive oil emulsion gels. A similar effect was observed in the thermal stability. Some authors have evaluated gelled emulsions stabilized by gelatin, alginate and a mixture of the two according to their phase separation stability and indicated that none of the emulsions formed a bottom aqueous phase, showing them to be stable (Sato et al., 2014). In oil-in-water emulsions stabilized with proteins (caseinate and soy protein) and their combination with transglutaminase, similar storage and thermal stability results to those observed in this work have been recorded (Delgado-Pando et al., 2010; Herrero et al., 2011). Additionally, optimal binding (water and fat) properties have been found in olive oil bulking agents based on polysaccharide gels such as alginate (Herrero et al., 2014). High storage and thermal stability of oil-in-water emulsion gels formulated in this work with excellent water and fat binding properties are useful and exhibit technological characteristics that are promising for use as animal fat replacers in the development of fresh and cooked meat products.

### 3.3. pH and color measurement

These O/W emulsion gels could be used as fat replacers in the reformulation of meat products and the pH values in this process could have an impact on the final products in which are incorporated. The pH of the emulsion gels was affected ( $p < 0.05$ ) by formulation and storage (Table 3). The initial pH ranged from 6.08–6.93. These pH values are within the value ranges described in pork backfat (Jiménez-Colmenero et al., 2012). The lowest ( $p < 0.05$ ) pH values were observed in samples where gelatin was used as the stabilizer system (CFG and CSG) and the highest pH values ( $p < 0.05$ ) were found in the emulsion gels with alginate (CFA and CSA). At the end of storage, pH had decreased ( $p < 0.05$ ) in the samples which contain transglutaminase in the stabilizer

**Table 2**  
Proximate analysis (%) of olive oil-in-water emulsion gels.

Samples <sup>a</sup>	Moisture	Ash	Protein	Fat
CFT	40.13 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.67 ± 0.05 <sup>c</sup>	53.02 ± 0.25 <sup>a</sup>
CST	40.08 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.01 <sup>ab</sup>	1.36 ± 0.08 <sup>b</sup>	53.45 ± 0.42 <sup>a</sup>
CFA	42.35 ± 0.91 <sup>b</sup>	1.41 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.03 <sup>a</sup>	53.39 ± 0.60 <sup>a</sup>
CSA	41.07 ± 0.25 <sup>ab</sup>	1.47 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.61 ± 0.03 <sup>a</sup>	53.50 ± 0.96 <sup>a</sup>
CFG	41.26 ± 0.10 <sup>ab</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>ab</sup>	2.08 ± 0.17 <sup>d</sup>	54.31 ± 0.41 <sup>a</sup>
CSG	40.95 ± 0.82 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.96 ± 0.22 <sup>d</sup>	54.54 ± 0.71 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> For sample denomination see Table 1. Means ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).



**Table 3**

pH, color ( $L^*$  lightness,  $a^*$  redness and  $b^*$  yellowness), TBARs values (mg MDA/kg sample), penetration force (PN) and gel strength (GS) of olive oil-in-water emulsion gels at 0 and 13 days of chilled storage.

Parameters	Samples <sup>a</sup>	Storage time (days at 2 °C)	
		0	13
pH	CFT	6.52 ± 0.02 <sup>b2</sup>	4.67 ± 0.07 <sup>a1</sup>
	CST	6.66 ± 0.01 <sup>c2</sup>	5.66 ± 0.10 <sup>b1</sup>
	CFA	6.76 ± 0.01 <sup>d1</sup>	6.98 ± 0.08 <sup>d2</sup>
	CSA	6.93 ± 0.02 <sup>e1</sup>	7.08 ± 0.04 <sup>e2</sup>
	CFG	6.08 ± 0.01 <sup>a1</sup>	6.32 ± 0.00 <sup>c2</sup>
	CSG	6.15 ± 0.02 <sup>a1</sup>	6.34 ± 0.01 <sup>c2</sup>
$L^*$	CFT	74.85 ± 0.64 <sup>b1</sup>	73.84 ± 1.53 <sup>ab1</sup>
	CST	72.61 ± 0.70 <sup>a1</sup>	72.68 ± 0.54 <sup>a1</sup>
	CFA	82.06 ± 1.69 <sup>e2</sup>	78.17 ± 1.19 <sup>d1</sup>
	CSA	78.10 ± 0.62 <sup>d2</sup>	74.12 ± 0.64 <sup>ab1</sup>
	CFG	76.43 ± 2.66 <sup>bc1</sup>	75.79 ± 1.40 <sup>c1</sup>
	CSG	77.69 ± 0.40 <sup>cd1</sup>	74.94 ± 1.58 <sup>bc1</sup>
$a^*$	CFT	−1.13 ± 0.17 <sup>c1</sup>	−1.27 ± 0.25 <sup>a1</sup>
	CST	−1.25 ± 0.21 <sup>c1</sup>	−1.39 ± 0.18 <sup>a1</sup>
	CFA	−1.21 ± 0.20 <sup>c1</sup>	−0.34 ± 0.10 <sup>b2</sup>
	CSA	−1.04 ± 0.31 <sup>c1</sup>	−0.12 ± 0.31 <sup>c2</sup>
	CFG	−1.58 ± 0.17 <sup>b1</sup>	−0.57 ± 0.25 <sup>b2</sup>
	CSG	−2.04 ± 0.18 <sup>a1</sup>	−1.26 ± 0.36 <sup>a2</sup>
$b^*$	CFT	21.00 ± 0.44 <sup>d1</sup>	23.01 ± 0.47 <sup>d2</sup>
	CST	16.77 ± 0.33 <sup>c1</sup>	18.13 ± 0.30 <sup>c2</sup>
	CFA	14.55 ± 0.54 <sup>ab1</sup>	14.63 ± 0.44 <sup>a1</sup>
	CSA	14.87 ± 0.31 <sup>b1</sup>	14.63 ± 0.37 <sup>a1</sup>
	CFG	14.84 ± 0.90 <sup>b1</sup>	15.29 ± 0.42 <sup>b1</sup>
	CSG	14.12 ± 0.35 <sup>a1</sup>	14.43 ± 0.62 <sup>a1</sup>
TBARs	CFT	0.14 ± 0.02 <sup>a1</sup>	0.83 ± 0.19 <sup>a2</sup>
	CST	0.20 ± 0.01 <sup>a1</sup>	2.11 ± 0.05 <sup>b2</sup>
	CFA	0.61 ± 0.15 <sup>b1</sup>	1.59 ± 0.16 <sup>b2</sup>
	CSA	0.75 ± 0.11 <sup>b1</sup>	1.86 ± 0.54 <sup>b2</sup>
	CFG	0.11 ± 0.00 <sup>a1</sup>	0.25 ± 0.09 <sup>a1</sup>
	CSG	0.11 ± 0.05 <sup>a1</sup>	0.24 ± 0.06 <sup>a1</sup>
PN (N)	CFT	0.04 ± 0.00 <sup>a1</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>b2</sup>
	CST	0.06 ± 0.00 <sup>a1</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>a1</sup>
	CFA	0.47 ± 0.04 <sup>b1</sup>	0.74 ± 0.08 <sup>e2</sup>
	CSA	0.76 ± 0.04 <sup>c1</sup>	1.03 ± 0.06 <sup>f2</sup>
	CFG	0.43 ± 0.06 <sup>b1</sup>	0.54 ± 0.04 <sup>c2</sup>
	CSG	0.44 ± 0.03 <sup>b1</sup>	0.67 ± 0.04 <sup>d2</sup>
GS (J)	CFT	0.13 ± 0.03 <sup>a1</sup>	0.90 ± 0.04 <sup>b2</sup>
	CST	0.18 ± 0.02 <sup>a1</sup>	0.54 ± 0.17 <sup>a2</sup>
	CFA	0.77 ± 0.07 <sup>b1</sup>	1.31 ± 0.09 <sup>c2</sup>
	CSA	1.58 ± 0.05 <sup>c1</sup>	2.56 ± 0.56 <sup>d2</sup>
	CFG	1.08 ± 0.22 <sup>b1</sup>	1.15 ± 0.10 <sup>bc1</sup>
	CSG	1.00 ± 0.17 <sup>b1</sup>	1.41 ± 0.07 <sup>c2</sup>

<sup>a</sup> For sample denomination see Table 1. Means ± standard deviation. Different letters in the same column and different numbers in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

system (Table 3). However, results showed a significant increase in pH values in emulsion gels containing alginate or gelatine in the stabilizer system. These emulsion gels could be used as another ingredient in meat product formulation and hence are subjected to different processing conditions, e.g. chilling storage. In this connection, pH changes produced during chilling storage are very important because they provide information about the product and could have an impact on the properties of the products in which are incorporated.

The color parameters of the oil-in-water emulsion gels were affected by formulation and storage (Table 3). In general, it was initially observed that the emulsion gels containing alginate in the stabilizer system (CFA and CFA) had the lightest color ( $p < 0.05$ ) (Table 3). It is important to note that when comparing samples with the same cold gelling agent (T, A, or G) the emulsion gel formulated with flour exhibited higher ( $p < 0.05$ )  $L^*$  values than those formulated with seeds values, except for samples with gelatin (Table 3). The emulsion gel with gelatin (CFG and CSG) in the

stabilizer system exhibited the lowest ( $p < 0.05$ )  $a^*$  values (Table 3), but not significant differences in redness values were observed between samples formulated with alginate or transglutaminase in the stabilizer system. The presence of transglutaminase in the stabilizer system gave rise to the most elevated  $b^*$  values, the highest ( $p < 0.05$ ) observed in samples formulated with chia flour (CFT). The  $b^*$  values of CFT were similar to those found in oil-in-water emulsion formulated with proteins (caseinate and soy protein) and transglutaminase in the stabilizer system (Delgado-Pando et al., 2010).

During storage  $L^*$  values were constant ( $p > 0.05$ ) in emulsion gels formulated with gelling agent T or G, but decrease ( $p < 0.05$ ) in samples containing alginate in the stabilizer system (Table 3). At the end of storage, a significant increase in  $a^*$  was observed in samples containing A or G as the cold gelling agent, while emulsion gels with T exhibited an increase ( $p < 0.05$ ) in  $b^*$  values.

Color is essential in the development of fat analogs since it is one of the main factors of determining consumer's choice of foods, including meat products. It has been reported that the addition of fat analogs such as konjac gel to frankfurters influences color perception (Jiménez-Colmenero et al., 2012; Kao & Lin, 2006). In this experiment the olive oil emulsion gels formulated, were generally similar in lightness to pork fats (Jiménez-Colmenero et al., 2012) but less red and more yellow probably due to the high olive oil content (52%). Several strategies can be used to modulate the color of these ingredients to obtain the most suitable color according to the type of meat products incorporating this animal fat replacer.

### 3.4. Lipid oxidation

Lipid oxidation (TBAR) was affected ( $p < 0.05$ ) by the type of oil-in-water emulsion gel and storage time (Table 3). Initially TBAR values were low for all samples, although the lowest ( $p < 0.05$ ) values of lipid oxidation corresponded to emulsion gels containing MTG (CFT and CST) or gelatin (CFG and CSG) in the stabilizer system. In samples formulated with gelatin (CFG and CSG), these low values remained constant ( $p > 0.05$ ) throughout storage (Table 3). However, lipid oxidation increased ( $p < 0.05$ ) during storage in emulsion gels made with MTG (CFT and CST) or alginate (CFA and CSA) (Table 3), and this was more pronounced in the samples formulated with chia seed and transglutaminase as the gelling agent (CST). A variety of factors influenced the lipid oxidation rate in emulsions, i.e. antioxidants, chelating agents, ingredient purity, ingredient partitioning, interfacial characteristics, droplet characteristics, and ingredient interactions (McClements & Decker, 2000). Thus, it seems reasonable to assume that some of these factors could also influence the lipid oxidation of emulsion gels. In particular, the low oxidation levels observed in the emulsion gels containing gelatin may be due to this cold gelling agent acting as a barrier to oxygen and thus reducing lipid oxidation (Herring, Jonnalagadda, Narayanan, & Coleman, 2010; Sato et al., 2014). In the case of the samples containing alginate as the cold gelling agent, the alginate has been found to cause certain antioxidant effects but to a lesser extent than the gelatin (Sato et al., 2014). In contrast, a significant increase in oxidation levels was observed in emulsions containing MTG (Delgado-Pando et al., 2011). These results coincide with those obtained in this study as the samples which contain MTG and chia seed (CST) exhibit the highest oxidation levels during storage (Table 3). However, this phenomenon was not observed when using chia flour and MTG as the cold gelling agent (CFT) (Table 3). This difference could be attributable to the fact that the chia flour the availability of the antioxidants present in chia flour may be higher due to prior processing (mincing, cutting, etc.), which implies a greater degree of structural disintegration compared with seed.

It is helpful to understand the oxidation behavior of oil-in-water emulsion gels since they form part of a group of a complex, heterophasic food system, that is especially susceptible to lipid oxidation (Cofrades et al., 2011; Jacobsen, Let, Skall Nielsen, & Meyer, 2008). Lipid oxidation is a cause of food deterioration, for example in meat products with a healthier lipid content formulated with oil-in-water emulsions, as the fat replacer, which then could be more susceptible to oxidation. Therefore, the oxidation behavior (low values) of the emulsions gels, development in this work is particularly relevant because such as emulsion gels can be used either as a lipidic ingredient or as an animal fat replacer in the reformulation of meat products.

### 3.5. Textural properties

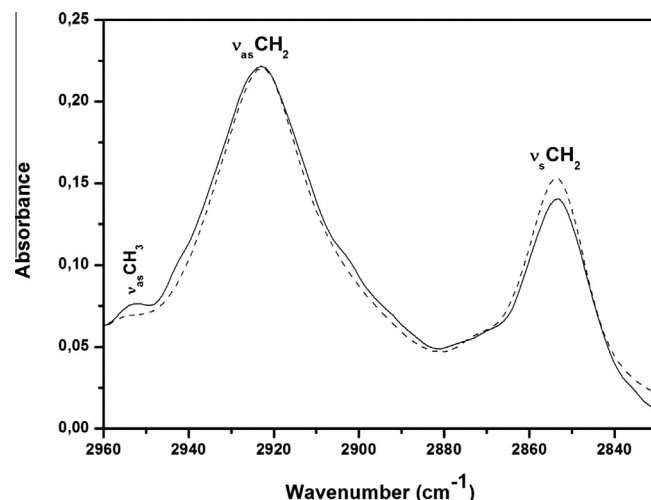
The textural properties, penetration force (PF) and gel strength (GS), of the oil-in-water emulsion gels formulated are shown in Table 3. These texture parameters exhibited significant differences ( $p < 0.05$ ) depending on formulation and storage time. In all samples force–deformation curves featured a breaking point characteristic of a gel structure. Samples containing MTG in the stabilizer system (CFT and CST) exhibited lower ( $p < 0.05$ ) PF and GS than those containing alginate (CFA and CSA) or gelatin (CFG and CSG). The PF results for CFT and CST were in line with those observed by other authors in olive oil-in-water emulsions formulated with proteins (caseinate and/or soy protein) and transglutaminase (Herrero et al., 2011). A general increase in PF and GS was observed for all samples during chilling storage (Table 3).

This different textural behavior as a function of the cold gelling agent used may be due to various factors. These include the real structural state of the emulsion gel based on a composite network formed by a combination of aggregated emulsion droplets and cross-linked macromolecules (Dickinson, 2013). In emulsion gels where the main structure is a type of aggregated particle gel textural properties are determined by interactions between oil droplets, whereas in gels with a main structure of particle-filled biopolymer gel the textural properties are primarily determined by those of the bulk phase biopolymer network (Dickinson, 2013). Moreover, oil droplet size has an important effect on the rheological properties of emulsion gels (Matsumura, Kang, Sakamoto, Motoki, & Mori, 1993; McClements, Monahan, & Kinsella, 1993). The use of ATR-FTIR spectroscopy can provide network structure information based on an understanding of the lipid interaction and size of the oil droplets in terms of the hydrodynamic radii ( $R_h$ ) of the emulsion droplets or emulsion droplet size, which can shed light on the different textural behavior of the O/W emulsion gels developed in this study.

### 3.6. Attenuated Total Reflectance (ATR)-FTIR spectroscopy

#### 3.6.1. Lipid interactions: CH stretching band

ATR-FTIR spectra in the 2960–2830  $\text{cm}^{-1}$  region of pure olive oil and olive oil emulsion gels formulated with a stabilizer system based on a combination of chia flour and transglutaminase as the cold gelling agent (CFT) at 0 days is shown in Fig. 1. Both spectra showed some characteristic common lipid functional groups. This infrared region (Fig. 1) is dominated by two strong bands at 2923 and 2854  $\text{cm}^{-1}$  resulting, respectively from the asymmetric and symmetric stretching vibrations of the acyl  $\text{CH}_2$  groups (Guillen & Cabo, 1997; Herrero et al., 2011). Broadening of the spectral profile of these bands is generally attributed to a reduction in the conformational order of the lipid acyl chains and to their increased dynamics (Herrero et al., 2011). Table 4 shows the half-bandwidth values of the 2923  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ ) and 2854  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$ ) bands of pure olive oil and olive oil emulsion gels at 0 and 13 days of chilled storage. When the emulsion gels are compared with pure olive oil



**Fig. 1.** ATR-FTIR spectra in the 2960–2830  $\text{cm}^{-1}$  region of pure olive oil (dash line) and olive oil-in-water emulsion gel (CFT) (solid line) formulated with a stabilizer system based on a combination of chia flour and transglutaminase as cold gelling agent (0 days).

**Table 4**

Half-bandwidth values of the 2923  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ ) and 2854  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$ ) bands of olive oil-in-water emulsion gels and area values of the 3220  $\text{cm}^{-1}$  band of water and olive oil-in-water emulsion gels at 0 and 13 days of chilled storage.

Parameters	Samples <sup>a</sup>	Storage time (days at 2 °C)	
		0	13
Half-bandwidth 2923 $\text{cm}^{-1}$ ( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ )	Olive oil	27.4 ± 0.2 <sup>a1</sup>	27.4 ± 0.2 <sup>a1</sup>
	CFT	31.9 ± 0.3 <sup>e1</sup>	29.6 ± 0.2 <sup>e2</sup>
	CST	30.2 ± 0.3 <sup>d1</sup>	29.2 ± 0.1 <sup>b2</sup>
	CFA	29.4 ± 0.4 <sup>c1</sup>	28.4 ± 0.2 <sup>bc2</sup>
	CSA	29.5 ± 0.2 <sup>c1</sup>	28.6 ± 0.1 <sup>c2</sup>
	CFG	29.2 ± 0.2 <sup>c1</sup>	28.7 ± 0.3 <sup>c1</sup>
Half-bandwidth 2854 $\text{cm}^{-1}$ ( $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$ )	Olive oil	15.9 ± 0.3 <sup>a1</sup>	15.9 ± 0.3 <sup>a1</sup>
	CFT	16.6 ± 0.4 <sup>a1</sup>	16.5 ± 0.1 <sup>a1</sup>
	CST	16.5 ± 0.3 <sup>a1</sup>	16.7 ± 0.2 <sup>a1</sup>
	CFA	16.3 ± 0.1 <sup>a1</sup>	16.2 ± 0.3 <sup>a1</sup>
	CSA	16.2 ± 0.3 <sup>a1</sup>	16.3 ± 0.2 <sup>a1</sup>
	CFG	16.4 ± 0.1 <sup>a1</sup>	15.6 ± 0.5 <sup>a1</sup>
Area 3220 $\text{cm}^{-1}$ band	CSG	16.3 ± 0.2 <sup>b1</sup>	28.1 ± 0.1 <sup>b1</sup>
	Pure water	0.494 ± 0.004 <sup>a1</sup>	0.494 ± 0.004 <sup>a1</sup>
	CFT	0.429 ± 0.007 <sup>b1</sup>	0.417 ± 0.007 <sup>b1</sup>
	CST	0.434 ± 0.005 <sup>b1</sup>	0.427 ± 0.004 <sup>c1</sup>
	CFA	0.409 ± 0.006 <sup>c1</sup>	0.404 ± 0.005 <sup>d1</sup>
	CSA	0.407 ± 0.004 <sup>c1</sup>	0.403 ± 0.004 <sup>d1</sup>
	CFG	0.408 ± 0.004 <sup>c1</sup>	0.405 ± 0.005 <sup>d1</sup>
	CSG	0.405 ± 0.002 <sup>c1</sup>	0.400 ± 0.006 <sup>d1</sup>

<sup>a</sup> For sample denomination see Table 1. Means ± standard deviation. Different letters in the same column and different numbers in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

(Table 4) a broadening of the 2923  $\text{cm}^{-1}$  acyl band is observed. This broadening may be attributed to the fact that the oil acyl chains are involved in interactions between structurally dissimilar acyl and protein chains as well as in other interactions such as intermolecular contacts between oil acyl chains and water and/or carbohydrate molecules (Herrero et al., 2011). These protein–lipid and lipid–water and carbohydrate interactions could cause disorder in the olive oil lipid chain in emulsion gel formation. Olive oil-in-water emulsion gel containing transglutaminase as the cold gelling agent exhibited the highest ( $p < 0.05$ ) half-bandwidth values of the 2923  $\text{cm}^{-1}$  band (Table 4) and hence the greatest lipid chain disorder which could be related to the highest acyl chain interactions.

O/W emulsion gels with MTG (CFT and CSF) showed greater lipid chain disorder or lipid interaction (Table 4) which may be attributable to a higher structural content based on aggregated droplet, associated with lower gel strength (Table 3), than emulsion gels which contain alginate or gelatin (CFA, CSA, CFG and CSG) characterized by higher gel strength (Table 3). These findings are supported by the fact that enzymatic crosslinking by MTG produces brittle emulsion gels (Dickinson & Yamamoto, 1996). This may be due to substantial growth of droplet aggregates in the enzyme-treated emulsion gel arising from the formation of some permanent covalent cross-links (Dickinson, 2012). This limits configurational rearrangements in the emulsion gel, thereby restricting the effectiveness of any droplet reinforcement of the network structure. Lipid chain disorder could be due to increased lipid–protein interaction promoted by a particular protein structure as a result of the action of MTG (Kuraishi, Yamazaki, & Susa, 2001). This generates protein cross-linking between polar side chains (glutamine, lysine, and arginine) present in chia seed and flour proteins, accompanied by exposure of side chain hydrophobic groups to the corresponding protein surface. This situation may promote the formation of aggregated emulsion droplets due to the insertion of these hydrophobic groups into the oil droplets which imply lipid chain disordering or lipid–protein interactions and band broadening. Accordingly, the presence of MTG in oil-in-water emulsions stabilized with caseinate or soy protein has been described as involving greater inter- and intra-molecular lipid disorder (Herrero et al., 2011).

The half-bandwidth values of the  $2923\text{ cm}^{-1}$  band did not show any significant identifiable trend ( $p < 0.05$ ) throughout the storage period.

### 3.6.2. Emulsion droplet size: OH stretching band

A broad absorption band in the  $3600\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$  region corresponds to the characteristic O–H stretching vibration and hydrogen bond of the hydroxyl groups. Fig. 2 shows the O–H stretch region for pure water and the emulsion gels CFT, CFA and CFG. It has been well established that there are two competing structures in the

short living molecular order in water: a tetrahedral ice-like arrangement and a non-tetrahedral arrangement (Kusualik, Mandy, & Svishchev, 1994; Marechal, 1991; McDonald, Bedwell, & Gulari, 1986). The component bands of the O–H stretching spectral profile of water in the  $3650\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  are broadly assigned to two categories. The bands at lower frequencies, approximately  $3300\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ , correspond to the strong hydrogen-bonded patches of molecules with a tetrahedral structure whereas the bands at higher frequencies ( $3650\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$ ) are related to the weak hydrogen bonded water molecules. Several studies have also shown that water molecules dynamics are significantly disturbed in confined geometries owing to interaction with hydrophilic or hydrophobic substrates at various levels of hydration (Benham et al., 1989; Bergman & Swenson, 2000; Brovchenko, Paschek, & Geiger, 2000; Zanotti, Bellissent-Funel, & Chen, 1999). Based on results obtained using NIR spectroscopy, other authors also pointed out that this technique can be used to accurately infer droplet size in biodiesel emulsions (Bampi, Scheer, & de Castilhos, 2013). In this work we investigate how water structure changes depending on the extent to which it is confined in the emulsion gels.

The spectrum of pure water and emulsion gels (Fig. 2) shows a good fit in terms of three Lorentzian components centered near  $3605$ ,  $3495$ ,  $3370$  and  $3220\text{ cm}^{-1}$ . When compared to pure water, the emulsion gel spectra shows a decrease in the relative band area around  $3220\text{ cm}^{-1}$  (Table 4) which is the measure of collectiveness of vibrations within the fraction of water molecules that take part in the tetrahedral structure. This area decrease in the  $3220\text{ cm}^{-1}$  band confirms a weakening of the hydrogen bond of the tetrahedrally coordinated water structure in the emulsion gels. Additionally, the lower percentage of the  $3220\text{ cm}^{-1}$  band for the CFG, CSG, CFA and CSA emulsion gels compared with CFT and CST can be explained in terms of emulsion droplet size. In fact, the decreasing intensity of this band can be correlated with the parallel decrease of the  $R_h$  of emulsion droplets (Brubach et al., 2001), implying that the size of the emulsion droplet incorporated into the three dimensional structure of emulsion gels which

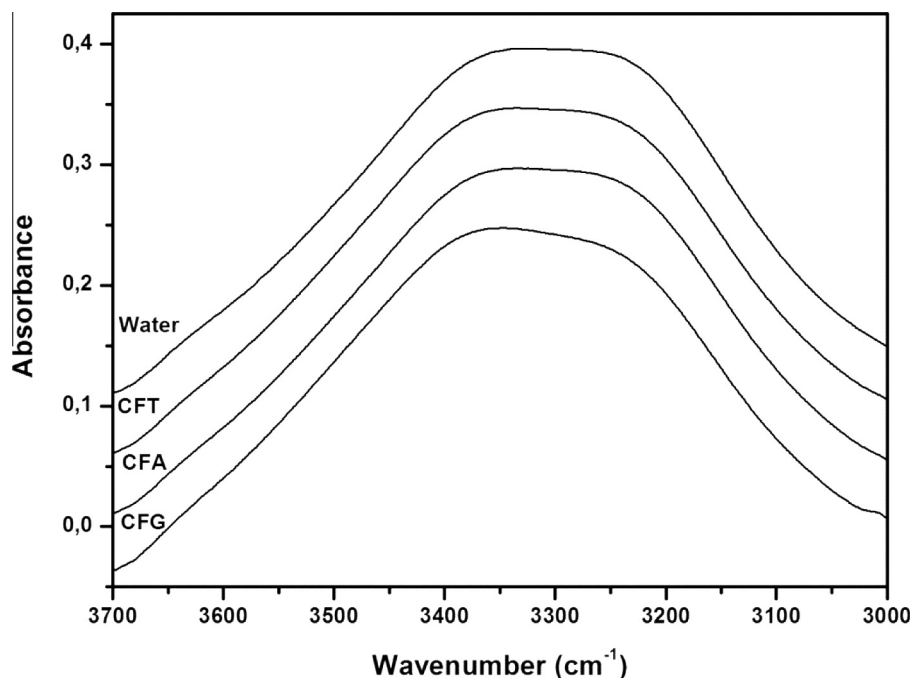


Fig. 2. ATR-FTIR spectra in the  $3600\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$  region of pure water and olive oil-in-water emulsion gels formulated with a stabilizer system based on a combination of chia flour and transglutaminase (CFT), alginate (CFA) or gelatin (CFG) as cold gelling agent (0 days).

contain alginate (CFA and CSA) or gelatin (CFG and CSG) is lower than emulsion gels which contain MTG (CFT and CST). Some authors have reported that oil droplet size has important effects on the rheological properties of emulsion gels (Matsumura et al., 1993; McClements et al., 1993). Compressive stress, strain and energy values of O/W emulsion agar gel containing small oil droplets were higher than those of emulsion gels containing large oil droplets (Kim, Gohtani, & Yamano, 1996). In whey protein isolate (WPI) gels containing emulsion droplets, it was observed that gel strength decreased as the droplet size increased (McClements et al., 1993). It has also been shown that small droplets can fit into the gel-network and act as anchor points which increase gel strength (McClements et al., 1993). Taking the above observations into account, the spectroscopic results related to emulsion droplet size seem to be consistent with the differences found in the textural properties of these emulsion gels (Table 3). Emulsion gels containing gelatin or alginate characterized by lower droplet size (Table 4) and higher PF and GS (Table 3) are expected because their lower droplet size can be incorporated into the network, reinforce its structure and consequently increase gel strength (Line, Remondetto, & Subirade, 2005; McClements et al., 1993).

The area values of the  $3220\text{ cm}^{-1}$  band did not display significant differences during refrigerated storage. Emulsion droplet size does not appear to have been significantly altered during storage.

It was found that emulsion droplet size and the disordering of the olive oil lipid chain (Table 4), attributed to an increase in lipid interactions, were accompanied by a typical textural behavior (Table 3). In particular, there was a significant negative correlation between the disorder of the lipid chain and PF ( $R = -0.68$ ,  $p < 0.005$ ) and GS ( $R = -0.65$ ,  $p < 0.05$ ). There was also a significant negative correlation between  $3220\text{ cm}^{-1}$  area related to emulsion droplet size, and PF ( $R = -0.84$ ,  $p < 0.005$ ) and GS ( $R = -0.71$ ,  $p < 0.0005$ ). These results suggest that the order/disorder of the olive oil lipid chain, related to lipid interactions and emulsion droplet size could be decisive for the textural properties of olive oil emulsion gels.

These relationships between emulsion droplet size, lipid interactions, and the textural properties of O/W emulsion gels coincide with previous research studies which indicate that both emulsion gel oil droplet size (Matsumura et al., 1993; McClements et al., 1993) and whether one or another structural type predominates, (i.e. a network of aggregated emulsion droplets or a network of cross-linked biopolymer molecules), contribute specific textural properties to emulsion gels.

#### 4. Conclusions

This study highlights the potential gain from the development O/W emulsion gels containing a variety of bioactive compounds, formulated with olive oil, chia (flour and seed) and a cold gelling agent (transglutaminase, alginate or gelatin) with adequate technological and nutritional properties for use as a healthier fat ingredient. The inclusion of chia in these emulsion gels, in addition to the technological properties it contributes, may open up interesting possibilities in the development of healthier products as it contributes a variety of bioactive compounds ( $\alpha$ -linolenic fatty acids, valuable proteins, antioxidants, dietary fiber, etc.).

ATR-FTIR spectroscopy provides valuable information about the real structural state of the network of these O/W emulsion gels in terms of olive oil lipid chain order/disorder, related to minor/major lipid interactions associated with major/minor presence of a network of aggregated emulsion droplets. This spectroscopic technique also provides helpful information about emulsion droplet size. These structural characteristics seem to be decisive in the textural properties of these O/W emulsion gels. In particular, samples

which contain MTG in the stabilizer system exhibit greater lipid chain disorder or lipid interaction and greater emulsion droplet size, all attributed to the greater presence of a network of aggregated droplets, which could be related to lower gel strength. In contrast, emulsion gels containing alginate or gelatin are characterized by lower lipid chain disorder or lipid interactions and smaller emulsion droplets, which could be connected to stronger gel strength.

An understanding of the structural properties and their relation to technological characteristics, in particular the textural behavior of O/W emulsion gels, together with an understanding of the changes in these properties during chilled storage, could greatly facilitate their incorporation into a suitable food matrix in novel functional food development. A possible application of these emulsion gels according to their nutritional, technological and structural characteristic would be their use as animal fat replacers in the formulation of healthier meat products. The choice of one or another O/W emulsion gel will depend on the final characteristics sought in the food product incorporating the emulsion gel.

#### Acknowledgements

This research was supported by projects of the Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I), Ministerio de Economía y Competitividad, AGL2010-19515 and AGL2011-29644-C02-01.

#### References

- AOAC (2005). *Official methods of analysis of AOAC international* (18th ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2004). Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Tropical Science*, 44, 131–135.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*, 34, 1366–1371.
- Bampi, M., Scheer, A. P., & de Castilhos, F. (2013). Application of near infrared spectroscopy to predict the average droplet size and water content in biodiesel emulsions. *Fuel*, 113, 546–552.
- Benham, M. J., Cook, J. C., Li, J. C., Ross, D. K., Hall, P. L., & Sarkissian, B. (1989). Small-angle neutron-scattering study of adsorbed water in porous vycor glass – supercooling phase-transition and interfacial structure. *Physical Review B*, 39, 633–636.
- Bergman, R., & Swenson, J. (2000). Dynamics of supercooled water in confined geometry. *Nature*, 403, 283–286.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Brovchenko, I., Paschek, D., & Geiger, A. (2000). Gibbs ensemble simulation of water in spherical cavities. *Journal of Chemical Physics*, 113, 5026–5036.
- Brubach, J. B., Mermet, A., Filabozzi, A., Gerschel, A., Lairez, D., Krafft, M. P., et al. (2001). Dependence of water dynamics upon confinement size. *Journal of Physical Chemistry B*, 105, 430–435.
- Camolezi Gaspar, A. L., & Pedroso de Góes-Favoni, S. (2015). Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review. *Food Chemistry*, 171, 315–322.
- Cofrades, S., Salcedo Sandoval, L., Delgado-Pando, G., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2011). Antioxidant activity of hydroxytyrosol in frankfurters enriched with  $n-3$  polyunsaturated fatty acids. *Food Chemistry*, 129, 429–436.
- Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., & Jiménez-Colmenero, F. (2010). Healthier lipid combination oil-in-water emulsions prepared with various protein systems: An approach for development of functional meat products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 791–801.
- Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., Triki, M., & Jiménez-Colmenero, F. (2011). Low-fat frankfurters formulated with a healthier lipid combination as functional ingredient: Microstructure, lipid oxidation, nitrite content, microbiological changes and biogenic amine formation. *Meat Science*, 89, 65–71.
- Dickinson, E. (2012). Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids*, 28, 224–241.
- Dickinson, E. (2013). Stabilising emulsion-based colloidal structures with mixed food ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 710–721.
- Dickinson, E., & Yamamoto, Y. (1996). Rheology of milk protein gels and protein stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1371–1377.



- Guillen, M. D., & Cabo, N. (1997). Characterization of edible oils and lard by Fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 74, 1281–1286.
- Herrero, A. M., Carmona, P., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2014). Polysaccharide gels as oil bulking agents: Technological and structural properties. *Food Hydrocolloids*, 36, 374–381.
- Herrero, A. M., Carmona, P., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2010). Applications of vibrational spectroscopy to study protein structural changes in muscle and meat batter systems. In J. Chalmers, P. Griffiths, & E. Li-Chan (Eds.), *Applications of vibrational spectroscopy to food science* (pp. 315–328). West Sussex, UK: John Wiley & Sons.
- Herrero, A. M., Carmona, P., Pintado, T., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2011). Olive oil-in-water emulsions stabilized with caseinate: Elucidation of protein–lipid interactions by infrared spectroscopy. *Food Hydrocolloids*, 25, 12–18.
- Herring, J. L., Jonnalagadda, S. C., Narayanan, V. C., & Coleman, S. M. (2010). Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage. *Meat Science*, 85, 651–656.
- Jacobsen, C., Let, M. B., Skall Nielsen, N., & Meyer, A. S. (2008). Antioxidant strategies for preventing oxidative flavour deterioration of foods enriched with *n*–3 polyunsaturated lipids: A comparative evaluation. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 76–93.
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., Herrero, A. M., Fernández-Martín, F., Rodríguez-Salas, L., & Ruiz-Capillas, C. (2012). Konjac gel fat analogue for use in meat products: Comparison with pork fats. *Food Hydrocolloids*, 26, 63–72.
- Jiménez-Colmenero, F., Herrero, A. M., Pintado, T., Solas, M. T., & Ruiz-Capillas, C. (2010). Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. *Food Research International*, 43, 2068–2076.
- Kao, W. T., & Lin, K. W. (2006). Quality of reduced-fat frankfurters modified by konjac-starch mixed gels. *Journal of Food Science*, 71, S326–S332.
- Kim, K. H., Gohtani, S., & Yamano, Y. (1996). Effects of oil droplets on physical and sensory properties of O/W emulsion agar gel. *Journal of Texture Studies*, 27, 655–670.
- Kuraishi, C., Yamazaki, K., & Susa, Y. (2001). Transglutaminase: Its utilization in the food industry. *Food Reviews International*, 17, 221–246.
- Kusualik, P. G., Mandy, M. E., & Svishchev, I. M. (1994). The dielectric-constant of polar fluids and the distribution of the total dipole-moment. *Journal of Chemical Physics*, 10, 7654–7664.
- Lam, R. S. H., & Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food Chemistry*, 141, 975–984.
- Lee, S. H., Lefèvre, T., Subirade, M., & Paquin, P. (2009). Effects of ultra-high pressure homogenization on the properties and structure of interfacial protein layer in whey protein-stabilized emulsion. *Food Chemistry*, 113, 191–195.
- Line, V. L. S., Remondetto, G. E., & Subirade, M. (2005). Cold gelation of beta-lactoglobulin oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 19, 269–278.
- Lopez-Miranda, J., Badimon, L., Bonanome, A., Lairon, D., Kris-Etherton, P. M., Mata, P., et al. (2006). Monounsaturated fat and cardiovascular risk. *Nutrition Reviews*, 64, S2–S12.
- Marechal, Y. (1991). Infrared-spectra of water. 1. Effect of temperature and of H/D isotopic dilution. *Journal of Chemical Physics*, 95, 5565–5573.
- Matsumura, Y., Kang, I. J., Sakamoto, H., Motoki, M., & Mori, T. (1993). Filler effects of oil droplets on the viscoelastic properties of emulsion gels. *Food Hydrocolloids*, 7, 227–240.
- McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science*, 65, 1270–1282.
- McClements, D. J., Monahan, F. J., & Kinsella, J. E. (1993). Effect of emulsion droplets on the rheology of whey protein isolate gels. *Journal of Texture Studies*, 24, 411–422.
- McDonald, H., Bedwell, B., & Gulari, E. (1986). FTIR spectroscopy of microemulsion structure. *Langmuir*, 2, 704–708.
- Olivos-Lugo, B. L., Valdivia-López, M. Á., & Tecante, A. (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Food Science and Technology International*, 16, 89–96.
- Roopa, B. S., & Bhattacharya, S. (2010). Texturized alginate gels: Screening experiments to identify the important variables on gel formation and their properties. *LWT – Food Science and Technology*, 43, 1403–1408.
- Sala, G., van Vliet, T., Stuart, M. A. C., van Aken, G. A., & van de Velde, F. (2009). Deformation and fracture of emulsion-filled gels: Effect of oil content and deformation speed. *Food Hydrocolloids*, 23, 1381–1393.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graue, A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2013). Physicochemical characterization of lemongrass essential oil-alginate nanoemulsions: Effect of ultrasound processing parameters. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 2439–2446.
- Sato, A. C. K., Moraes, K. E. F. P., & Cunha, R. L. (2014). Development of gelled emulsions with improved oxidative and pH stability. *Food Hydrocolloids*, 34, 184–192.
- Thakur, G., Naqvi, M. A., Rousseau, D., Pal, K., Mitra, A., & Basak, A. (2012). Gelatin-based emulsion gels for diffusion-controlled release applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 23, 645–661.
- Yang, M., Liu, F., & Tang, C. H. (2013). Properties and microstructure of transglutaminase-set soy protein-stabilized emulsion gels. *Food Research International*, 52, 409–418.
- Zanotti, J. M., Bellissent-Funel, M. C., & Chen, S. H. (1999). Relaxational dynamics of supercooled water in porous glass. *Physical Review E*, 59, 3084–3093.





**4.3 Emulsion gels as potential fat replacers delivering  
β-glucan and healthy lipid content for food applications**

*Journal of Food Science and Technology, 2016, 53, 4336-4347*



# Emulsion gels as potential fat replacers delivering $\beta$ -glucan and healthy lipid content for food applications

T. Pintado<sup>1</sup> · A. M. Herrero<sup>1</sup> · F. Jiménez-Colmenero<sup>1</sup> · C. Ruiz-Capillas<sup>1</sup>

Revised: 20 November 2016 / Accepted: 30 November 2016 / Published online: 19 December 2016  
© Association of Food Scientists & Technologists (India) 2016

**Abstract** Oat emulsion gels and oil-free oat gels were formulated with varying proportions of oat bran/olive oil (from 12/40 to 28/0) without or with alginate or gelatin used as animal fat replacers and/or to provide  $\beta$ -glucan and MUFA for meat products. Composition, technological properties (thermal stability, colour, texture, etc.) and the effects of chilled and frozen storage of samples were evaluated. Depending on the proportion, samples developed for use as animal fat replacers in meat products may endow these with properties qualifying them for nutrition and health claims. No samples showed any noticeable syneresis and all showed good thermal stability. Increasing of oat bran/olive oil increased  $a^*$  and reduced  $b^*$  values, while differences in  $L^*$  depended on the gelling agent. Penetration force (PF) and gel strength increased when the oat bran/oil ratio increased, with the highest values in the samples containing alginate or gelatin. Thermal losses and PF generally increased during chilled and frozen storage, and no significant differences were observed in colour or pH over storage.

**Keywords** Oat emulsion gel · Oil-free oat gel · Alginate · Gelatin · Olive oil

## Introduction

Reformulation is one of the most important approaches to improving the fat content of meat products and developing healthy and functional foods. Different vegetable and marine oils, or combinations of these, have been used to partially replace animal fat for a better (healthy) fatty acid profile and lower fat content in meat products. However, these liquid lipid materials have different physicochemical characteristics from habitually used meat fats, which may have a negative effect on the desired quality attributes in the reformulated product (Jimenez-Colmenero 2007). Novel proposals for liquid-phase oil stabilization and structuring have recently been reported based on the modification or structuring of oils to create a plastic fat which retains solid-like properties while possessing a healthier fatty acid profile (Jimenez-Colmenero et al. 2015). In this context, it should be highlight the possibilities offered by the formation of structured emulsions such as hydrogelled emulsions (emulsion gels). Such a solid-like emulsion gel may be generated from a stable liquid-like emulsion by gelling (by thermal, enzymatic or chemical means) the continuous phase and/or aggregating the emulsion droplets (Jimenez-Colmenero et al. 2015).

Oat bran is a potentially useful ingredient in reformulation to produce healthy and functional meat products, since it contains healthy bioactive compounds and possesses useful technological properties. Oat bran contains high-quality proteins, vitamins and unsaturated fatty acids; however, the chief nutritional attribute of oat bran is that it provides soluble dietary fibre, primarily  $\beta$ -glucan (Arendt and Zannini 2013) which is associated with several health benefits (Wolever et al. 2010). A health claim has been associated with this component: oat beta-glucan can

✉ A. M. Herrero  
ana.herrero@ictan.csic.es

<sup>1</sup> Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC), José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, Spain

actively lower/reduce blood LDL and total cholesterol (EFSA 2010).

The proteins and  $\beta$ -glucans (cell-wall polysaccharides) present in oats have useful emulsifying and gelling properties depending on the conditions. In this regard, chemically modified oat protein (mainly globulins) has been described as an emulsifier (Laine et al. 2011). Additionally, oat protein has been used as a gelling agent, being its gel properties conditioned by various different treatments such as pH, thermal processing, enzymatic hydrolysis or addition of microbial transglutaminase, inulin, etc. (Siu et al. 2002). Then again,  $\beta$ -glucans extracted from barley and oats had good emulsion capacity, offering useful applications such as thickening and stabilizing of emulsions (Brunner et al. 2014; Burkus and Temelli 2000; Kontogiorgos et al. 2004; Lazaridou and Biliaderis 2007; Santipanichwong and Suphantharika 2009). Cereal  $\beta$ -glucan hydrogels with diverse molecular characteristics and properties have been produced under various isothermal conditions (5–45 °C), molecular sizes and polymer concentrations (Lazaridou and Biliaderis 2007). In light of all these statements, the use of oat bran would seem a promising option for the development of structured emulsions (particularly emulsion gels) and gels with solid-like properties. An interesting alternative could be to use oat bran with a cold gelling agent to reinforce their solid-like characteristic.

Of vegetable oils used as animal fat replacers, olive is the one that has received most attention because of its high biological value, including high MUFA content and antioxidants (Jimenez-Colmenero 2007). The combination of olive oil and oat bran could confer attractive additional nutritional and healthy properties. Structured emulsions and gels containing oat bran and olive oil could be excellent carriers for delivery of healthy bioactive compounds in consumer diets, such as  $\beta$ -glucans, dietary fibre, unsaturated fatty acids (mainly MUFAs from olive oil), antioxidants, etc. In this regard, previous studies have shown the potential of emulsion gels containing a variety of bioactive compounds formulated with olive oil, chia (source of  $\alpha$ -linolenic fatty acids, dietary fibre, minerals, etc.) and cold gelling agents with suitable technological and nutritional properties, for use as healthier fat ingredients (Pintado et al. 2015).

Strategies for structuring healthy oils based on the use of oat bran do then seem a reasonable approach, but it has not yet been explored. The objective of this work was therefore to assess the possibility of developing oat bran structured emulsions (hydrogelled emulsions) and gels to obtain a new solid-like lipid material for use as an animal fat replacer and provide certain bioactive compounds in healthier-lipid reformulation of meat products. To that end, various proportions of oat bran/olive oil and alginate or gelatin were assayed to produce stabilized and structured

(oil-in-water, O/W) emulsions in hydrogels (emulsion gels) and oil-free gels with appropriate nutritional (mainly as sources of  $\beta$ -glucans and MUFAs) and technological properties. The technological properties of the new lipid material were estimated in different formulation conditions. Additionally, the effects of chilling and frozen storage were evaluated in the structured emulsions and gels since these can influence their technological characteristics, hence affecting the quality of meat products containing them, which are typically stored chilled or frozen.

## Materials and methods

### Design and preparation of samples

Various proportions of oat bran, olive oil and gelling agents (alginate or gelatin) were assayed to develop a lipid material with a solid-like structure. Oat bran used containing 20% protein, 20% carbohydrates, 44% total dietary fibre (of which 22%  $\beta$ -glucan soluble fibre) and 5.1% fat according to supplier. Oat bran and olive oil concentrations employed, as well as the presence of alginate or gelatin in the new lipid material in the form of structured O/W oat emulsions in hydrogel-emulsion gels, were prepared based on both technological considerations (formation of the different solid-like structures) and compositional aspects (high concentration of bioactive compounds). This last aspect include assessing the possibility of using nutritional and health claims when these lipid materials can be included in foods such as meat products (Parliament 2006, 2012). Indeed, the main purpose of this work was to modulate the solid-like properties of structured emulsions and gels so as to mimic animal fat as nearly as possible, since they are designed for use as fat replacers, ideally without detrimental changes in quality properties of the final product in which they are included. Additionally, oil-free gels were prepared as olive oil-free samples. Alginate and gelatin concentrations (Table 1) were based on previous studies (Pintado et al. 2015).

Three types of olive oil-in-water structured (hydrogelled) emulsions (emulsion gels) were formulated: an oat emulsion gel without added gelling agent (OEW) and two types of oat emulsion gels with added gelling agent, one with alginate (OEA) and the other with gelatin (OEG). From each of these types of emulsion gel, various formulations were made up containing different oat bran (12–28% w/w) and olive oil (5–40% w/w) concentrations (Table 1). Additionally, three types of oil-free oat gels were prepared (Table 1), one without a gelling agent (OGW) and two with alginate (OGA) or gelatin (OGG).

Samples of 700 g were prepared (in duplicate) for each formulation by mixing the ingredients in a homogenizer

**Table 1** Formulation (%) of different oat emulsion gels and oil-free gels

Samples <sup>a</sup>	Oat bran	Olive oil	Water	Alginate	Gelatin
OEW 12/40	12	40	48	0	0
OEA 12/40	12	40	46	2	0
OEG 12/40	12	40	46	0	2
OEW 14/35	14	35	51	0	0
OEA 14/35	14	35	49	2	0
OEG 14/35	14	35	49	0	2
OEW 16/30	16	30	54	0	0
OEA 16/30	16	30	52	2	0
OEG 16/30	16	30	52	0	2
OEW 18/25	18	25	57	0	0
OEA 18/25	18	25	55	2	0
OEG 18/25	18	25	55	0	2
OEW 20/20	20	20	60	0	0
OEA 20/20	20	20	58	2	0
OEG 20/20	20	20	58	0	2
OEW 22/15	22	15	63	0	0
OEA 22/15	22	15	61	2	0
OEG 22/15	22	15	61	0	2
OEW 24/10	24	10	66	0	0
OEA 24/10	24	10	64	2	0
OEG 24/10	24	10	64	0	2
OEW 26/5	26	5	69	0	0
OEA 26/5	26	5	67	2	0
OEG 26/5	26	5	67	0	2
OGW 28/0	28	0	72	0	0
OGA 28/0	28	0	70	2	0
OGG 28/0	28	0	70	0	2

<sup>a</sup> Sample denominations for oat emulsion gels (OE): without added gelling agent (OEW), containing alginate (OEA) and gelatin (OEG). Sample denominations for oil-free oat gels (OG): without added gelling agent (OGW), containing alginate (OGA) and gelatin (OGG)

(Thermomix TM 31, Vorwerk España M.S.L., S.C, Madrid, Spain). To prepare OEW, firstly the oat bran powder (OatWell® 22%, Zeus Química, S.A. Barcelona, Spain) was mixed with water in different proportions as indicated in Table 1, for 30 s at high speed (approx. 5600 rpm). The final mixture was mixed at approx. 5600 rpm with gradual addition of the corresponding olive oil (Carbonell Virgen Extra, SOS Cuétara SA, Madrid, Spain) (Table 1). In OEA or OEG the gelling agent, alginate and gelatin (Tradissimo, TRADES S.A., Barcelona Spain), was added and the sample mixed for 15 s (at approx. 5600 rpm) before the olive oil was added. The alginate gelling agent was prepared beforehand by mixing sodium alginate (0.73%), CaSO<sub>4</sub> (0.73%) and tetra-sodium pyrophosphate anhydrous (0.54%) (the last two previously dissolved in water). Oil-free oat gels were prepared by

mixing oat bran and water (OGW), or oat bran, water and the gelling agent; alginate (OGA) or gelatin (OGG) (Table 1). Finally, each sample was placed in a metal container (designed for cooked ham) (IMPOTUSA, SA, Navarra, Spain) under pressure to compact it and prevent air bubbles, and stored in a chilled room at 2 °C for 24 h. Similar amounts of samples (about 700 g) were added to each metal container. The same maximum pressure mark level which permits this amount of sample was chosen in this container for all samples to obtain similar pressure (aprox. maximum mark three for this amount of sample).

The weight of sample to metal container and these containers have characteristics marks identified that permit chose the same pressure level for all samples.

The different formulations (Table 1) were divided into pieces of approximately 150–190 g and packed (after weighing) in plastic bags (Cryobac® BB3050) in aerobic conditions. For each formulation part of the samples was stored in a chilled room at 2 °C (±1) for 15 days and another part were frozen in an air blast freezer (Frigoscandia, Aga, Freezer Division, Helsingborg, Sweden), until the thermal centre reached –20 °C (within 1 h 30 min), and the resulting frozen samples were stored at –20 ± 2 °C for 15 days. Analyses were carried out at 0, 6 and 15 days for chilled storage and 1 and 15 days to evaluate the effect of frozen storage (including freezing, frozen storage and thawing). The frozen samples were thawed for analysis (20 h at 4 °C). The entire experimental procedure was performed in duplicate.

## Technological properties

### Syneresis

Syneresis, evaluated as content of exudate, including fat and water losses, was determined in samples by weight difference (%) between initial, chilled, freezing/frozen storage.

### Thermal stability

Thermal stability, in terms of water and fat binding properties, of the samples was determined (in triplicate) by measuring water and fat loss during heating. Whole portions (25–30 g, accurately weighed) of appropriate dimensions were placed in cylindrical plastic tubes (FalconTM 50 ml, diam. 30 mm × 115 mm), which were hermetically sealed and heated in a water bath for 30 min at 70 °C. They were then opened and left to stand upside down (for 50 min) to release the separated fat and water on to a plate. Matrix stability, as total fluid release (TFR), was expressed as % of initial sample weight. Water release

(WR) was determined as % weight loss after heating the total released fluid (fat and water) for 16 h on a stove at 100 °C. Fat release (FR) was calculated as the difference between total loss (measured as % of initial sample weight) and water loss (Jimenez-Colmenero et al. 1995).

### *pH*

Sample pH was measured in quadruplicate using a 827 Metrohm pH-meter (MetrohmAG, Switzerland) at room temperature on homogenates of samples in distilled water in a ratio of 1:10 w/v.

### *Colour measurement*

Surface colour determinations were evaluated (Konica Minolta CM-3500d colorimeter. Konica Minolta, Madrid, Spain) with the samples placed in glass Petri dishes (9 mm diameter). Colour, CIE-LAB tristimulus values, lightness, L\*; redness, a\* and yellowness, b\* of the samples were evaluated. Nine determinations were carried out for each sample.

### *Textural properties*

Textural properties were determined (six measurements) by penetration test performed in a TA-XT plus Texture Analyzer (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY). Penetration test was performed with a load cell of 5 kg and a 4 mm diameter cylindrical stainless steel plunger at a velocity of 0.8 mm/s and force exerted at 10 mm. The textural parameters evaluated were: (a) penetration force (PF, N), which is the maximum force in the curve, and (b) gel strength (GS, mJ) defined as the area enclosed by the force–deformation curve at the point of gel rupture. When no point of rupture was found, PF and GS were not calculated.

### **Statistical analysis**

Analyses of variance (ANOVA) were performed to evaluate the statistical significance ( $p < 0.05$ ) of the effect of sample formulation and storage time using IBM SPSS Statistics 22 (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA). Least squares differences were used for comparison of mean values among formulations and Tukey's HSD test to identify significant differences ( $p < 0.05$ ) between formulations and storage time. Pearson product moment correlation (R) was performed using Statgraphics Plus version 5.0 to determine the relationships between oat bran, olive oil, water and gelling agents added (alginate or gelatin) and technological properties data.

## **Results and discussion**

### **Considerations regarding sample composition**

In order to understand differences in sample properties, as well as sample behaviour during processing, some considerations need to be set out regarding their composition (estimated from Table 1). Thus, protein content of the samples ranged between 2.4 and 5.6%, derived from oat bran, although the samples containing 2% gelatin (84% protein content) additionally contained 1.68% protein. Oat bran proteins consist mainly of globulins, although they also contain smaller proportions of albumins, glutelins and prolamines (Klose and Arendt 2012). Their low prolamine content (4–15%) makes them suitable for inclusion in gluten-free diets (Storsrud et al. 2003). Compared to other cereal proteins, oat protein also provides a better amino acid balance as it contains higher amounts of limiting amino acids lysine and threonine, which are essential for humans and other monogastric animals (Klose and Arendt 2012).

Oat bran contain the bulk of the dietary fibre (Malkki and Virtanen 2001). In our experimental conditions, the total dietary fibre (TDF) content in samples varied from 5.3 to 12.3% depending on oat bran content. Dietary fibre has been recognized as an important part of the complete diet and a fibre intake of 28–36 g/day is recommended for adults (Mehta et al. 2015).  $\beta$ -glucan content in samples ranged from 2.6 to 6.2% depending on the amount of oats added.  $\beta$ -glucans are linear homopolysaccharides of D-glucopyranosyl residues linked via  $\beta$ -(1 → 3) and  $\beta$ -(1 → 4) linkages, mainly forming (1 → 3)-linked celotriosyl and (1 → 3)-linked cellotetraosyl units (Wood et al. 1994).  $\beta$ -glucans extracted from cereals such as barley or oats play a significant role in reduce cardiovascular diseases or the symptoms of diabetes (Tapola et al. 2005; Wolever et al. 2010).

Emulsion gel fat content ranged between 40.2% (OEW, OEA and OEG 12/40) and 6.2% (OEW, OEA and OEG 26/5); for all oil-free gels (OGW, OGA and OGG 28/0) fat content was 1.4%. The fat source in emulsion gels (OEW, OEA and OEG) was mainly olive oil, while in oat gels (OGW, OGA and OGG) it was only oat bran. It is important to note that olive oil containing 14.87% SFA, 75.32% MUFA and 8.97% PUFA (Delgado-Pando et al. 2010) and oat bran 5.1% fat (0.9% SFA; 2.1% MUFA and 1.9% PUFA). Thus, maximum values of MUFAs, PUFAs and SFA were 30.1, 3.8 and 0.1% for emulsion gels OEW, OEA and OEG 12/40, while minimum values were registered in OEW, OEA and OEG 26/5 with 4.3% MUFAs, 0.9% PUFAs and 1.0% SFA. In oil-free gels (OGW, OGA and OGG 28/0) the fatty acid profiles were 0.2%; 0.6 and 0.5% for SFA, MUFA and PUFA contents respectively.



Oat emulsion gels and oil-free gels showed energy values between 61.6 and 393.12 kcal/100 g. These energy values were based on 9 kcal/g for fat; 4 kcal/g for protein and carbohydrates and 2 kcal/g for dietary fibre (Moreiras et al. 2013). If we compare, for example, the calorie content of these oat emulsion gels and oil-free gels (as healthier fat ingredients) with the pork backfat normally used in making meat products, whose energy value is about 673 kcal/100 g (Moreiras et al. 2013), the calorie count could be reduced by over 30%.

Additionally, in view of the health benefits of olive oil and oat bran, oat emulsion gels and oil-free oat gels would seem promising as healthier ingredients in food products. With the appropriate composition, their use as animal fat replacers in meat products could, depending on the amount used, warrant some nutrition and health claims under the EU Regulations 432/2012 and 1924/2006 (Parliament 2006, 2012). Possible nutritional claims could include labelling as sources of fibre and unsaturated fat (Parliament 2006). As for potential health claims, for instance given the amount of  $\beta$ -glucan that can be delivered in the meat product, it could be labelled helps to maintain normal blood cholesterol levels (Parliament 2012).

### Technological properties

On-line preparation and use of these emulsion gels and oil-free gels is not always possible, and often prepared beforehand and used as ingredients in food product reformulation. In this regard, chilled and frozen storage are both habitually used, among other things to organize production tasks. However, the kinds of chilling and freezing/thawing processes typically used in the production of foods such as meat products can influence their characteristics, affecting the quality properties of reformulated products containing them. A clear understanding of the behaviour of oat emulsion gels and oil-free oat gels under different processing and storage conditions is important to guarantee the quality of the product containing them upon completion of production and throughout the commercialization process.

#### *Syneresis and thermal stability*

No noticeable release of exudates (syneresis) was observed in any of the samples immediately after preparation. Oat emulsion gels and oil-free gels were generally thermally stable since there was no appreciable phase separation or disruption of the gel's physical structure after heating. All samples showed good water and fat binding ability after heating. None of the samples containing gelatin showed any noticeable TFR at day 0 (Table 2). However, emulsion gels OEW and OEA with oat/oil proportions from 12/40 to 16/30 registered TFR at day 0, with the highest ( $p < 0.05$ )

values recorded for OEA 12/40 and OEW 12/40 (Table 2). These TFR proportions were due mainly to fat loss (around 94–99.8%); this behaviour seems consistent with the fact that there was no noticeable TFR in samples with lower proportions of oil and oil-free gels containing mainly water and oats (Table 1). The better thermal stability observed for oat emulsion gels and oil-free gels may be attributed to both the presence of oat bran and where applicable also to the concentration of gelling agent, mainly gelatin. Both the proteins and the  $\beta$ -glucans present in oat bran have been found to possess water and fat binding capacity as well as emulsion stabilizing capabilities (Burkus and Temelli 2000; Klose and Arendt 2012; Kontogiorgos et al. 2004; Lazaridou and Biliaderis 2007; Santipanichwong and Supphantharika 2009; Siu et al. 2002). It has been reported that in whey protein concentrate emulsions with added barley  $\beta$ -glucan the phase separation substantially decreased due to a decrease in droplet size (Burkus and Temelli 2000). Also, the inclusion of  $\beta$ -glucan in egg-yolk model emulsions improved their stability extending time to manifestation of creaming by network formation in the continuous phase (Kontogiorgos et al. 2004). Also, Laine et al. (2011) showed that when oat bran content in an emulsion increases, the creaming rate decreases, because the movement of oil droplets is restricted due to the large increase in viscosity of the water phase. Then again, the thermal stability of oat emulsion gels and oil-free gels was influenced by the presence of alginate and gelatin since both possess useful low-temperature gel-forming properties whereby a structural network is formed containing a large water fraction (Roopa and Bhattacharya 2010; Sala et al. 2009). Some authors have evaluated gelled emulsions stabilized by gelatin, alginate and a mixture of both according to their phase separation stability, reporting that none of the emulsions formed a bottom aqueous phase, thus showing that they were stable (Sato et al. 2014). Additionally, optimal binding (water and fat) properties have been reported in oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica* L.) and alginate or gelatin (Pintado et al. 2015).

During chilled storage syneresis values in oat emulsion gels and oil-free oat gels were generally <5%, except for sample OEW 12/40, where it was 10%. Samples with thermal loss at day 0 (OEW and OEA from 12/40 to 16/30) showed an increase in TFR during chilled storage (Table 2). Additionally, TFR values in OEW 18/25 and OEA 18/25, which were not noticeable at day 0, increased significantly at day 6 of storage and then decreased at day 15, although values never exceeded a maximum of 1.6% (Table 2). During chilled storage, it was still observed that TFR was fat release mainly with values between 76 and 100%. None of the samples containing gelatin registered any noticeable TFR during chilled storage. According with



**Table 2** Total fluid release (%) of oat emulsion gels and oil-free gels during chilled and frozen storage

Samples <sup>a</sup>	Day 0	Chilled storage		Frozen storage	
		Day 6	Day 15	Day 1	Day 15
OEW12/40	5.38 ± 0.07 <sup>b</sup> <sub>AX</sub>	9.84 ± 0.29 <sup>d</sup> <sub>B</sub>	6.43 ± 0.91 <sup>d</sup> <sub>B</sub>	9.02 ± 0.55 <sup>d</sup> <sub>Y</sub>	5.82 ± 0.44 <sup>cd</sup> <sub>X</sub>
OEA 12/40	7.13 ± 0.76 <sup>b</sup> <sub>AX</sub>	6.35 ± 0.51 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	8.88 ± 0.24 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	9.66 ± 0.73 <sup>de</sup> <sub>Y</sub>	10.35 ± 0.26 <sup>e</sup> <sub>Y</sub>
OEG 12/40	ND	ND	ND	ND	3.08 ± 0.90 <sup>b</sup>
OEW 14/35	3.33 ± 0.44 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	8.51 ± 0.68 <sup>d</sup> <sub>B</sub>	6.51 ± 0.98 <sup>d</sup> <sub>B</sub>	8.67 ± 1.35 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>	6.93 ± 0.50 <sup>d</sup> <sub>Y</sub>
OEA 14/35	2.73 ± 0.16 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	5.53 ± 1.21 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	5.09 ± 0.34 <sup>bcd</sup> <sub>B</sub>	11.16 ± 0.64 <sup>e</sup> <sub>Z</sub>	9.17 ± 0.65 <sup>c</sup> <sub>Y</sub>
OEG 14/35	ND	ND	ND	ND	3.03 ± 0.45 <sup>b</sup>
OEW 16/30	2.28 ± 0.37 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	6.26 ± 0.54 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	4.75 ± 0.45 <sup>bc</sup> <sub>B</sub>	4.79 ± 0.57 <sup>b</sup> <sub>Y</sub>	5.56 ± 0.29 <sup>c</sup> <sub>Y</sub>
OEA 16/30	2.04 ± 0.60 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	2.89 ± 0.32 <sup>b</sup> <sub>AB</sub>	4.00 ± 0.56 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	8.60 ± 0.45 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>	7.02 ± 0.16 <sup>d</sup> <sub>Y</sub>
OEG 16/30	ND	ND	ND	ND	1.73 ± 0.09 <sup>a</sup>
OEW 18/25	ND	1.59 ± 0.21 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	1.34 ± 0.16 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	4.54 ± 0.32 <sup>b</sup> <sub>X</sub>	3.50 ± 0.27 <sup>b</sup> <sub>X</sub>
OEA 18/25	ND	0.30 ± 0.18 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1.69 ± 0.01 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	6.47 ± 0.73 <sup>bc</sup> <sub>Y</sub>	5.06 ± 0.16 <sup>c</sup> <sub>X</sub>
OEG 18/25	ND	ND	ND	ND	ND
OEW 20/20	ND	ND	ND	1.43 ± 0.23 <sup>a</sup>	ND
OEA 20/20	ND	ND	ND	1.55 ± 0.24 <sup>a</sup> <sub>Y</sub>	0.91 ± 0.10 <sup>a</sup> <sub>X</sub>
OEG 20/20	ND	ND	ND	ND	ND
OEW 22/15	ND	ND	ND	ND	ND
OEA 22/15	ND	ND	ND	ND	ND
OEG 22/15	ND	ND	ND	ND	ND
OEW 24/10	ND	ND	ND	ND	ND
OEA 24/10	ND	ND	ND	ND	ND
OEG 24/10	ND	ND	ND	ND	ND
OEW 26/5	ND	ND	ND	ND	ND
OEA 26/5	ND	ND	ND	ND	ND
OEG 26/5	ND	ND	ND	ND	ND
OGW 28/0	ND	ND	ND	ND	ND
OGA 28/0	ND	ND	ND	ND	ND
OGG 28/0	ND	ND	ND	ND	ND

Mean ± standard deviation. Different lowercase letters in superscript (a, b, c) in the same column indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences. Different capital letters in subscript for chilled storage (A, B) and frozen storage (X, Y, Z) indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences for each type of oat emulsion gel or oil-free gel with the same oat/olive oil proportion

ND non detectable total fluid release

<sup>a</sup> For sample description see Table 1

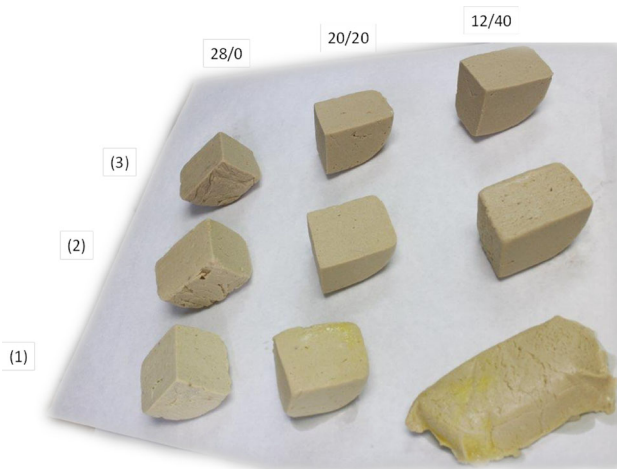
these results, Pintado et al. (2015) reported high thermal stability of oil-in-water chia emulsion gels formulated with alginate and gelatin during chilled storage.

Figure 1 shows the typical appearance of the frozen/thawed oat emulsion gels and oil-free gels reported here. In samples OEW and OEA from 12/40 to 16/30, which registered some initial thermal losses (TFR), TFR increased significantly during frozen storage, with the greatest increase at day 1 in sample OEW 12/40 and OEA 14/35 (Table 2). Also, TFR increased significantly in samples OEW and OEA 18/25 and 20/20 over frozen storage, although no TFR registered at day 0. TFR values were less than 6.5% for an oat/oil proportion of 18/25 and <1.6% for 20/20 (Table 2). In general, samples containing gelatin

registered no noticeable TFR during frozen storage except at day 15 in samples with an oat/oil proportion of 12/40–16/30, although values were <3%. About 95% of TFR was fat, since water losses were less than 0.5% (data not shown) in all samples, with no significant variation ( $p > 0.05$ ) over storage.

### pH

pH values ranged between 6.48 and 7.21 and were influenced ( $p < 0.05$ ) by the oat/oil proportion and the presence of gelling agent (Table 3). It was found that when the oat concentration increased (and the oil concentration decreased), there was a significant reduction in pH except



**Fig. 1** Oat emulsion gels and oil-free gels freezing/thawed at day 15: 1 without gelling agent added, 2 with alginate and 3 with gelatin. Oat bran/olive oil proportions: 28/0, 20/20 and 12/40

in the samples containing gelatin, where the effect was the opposite (Table 3). If we compare oat emulsion gels and oil-free gels formulated with the same oat/oil proportion, it was found that the samples made with gelling agents registered lower ( $p < 0.05$ ) pH values, especially ( $p < 0.05$ ) the samples with gelatin. Some authors have observed that dairy products fortified with  $\beta$ -glucan concentrate exhibit significantly lower pH (Volikakis et al. 2004) which would explain why pH decreased when the oat concentration was increased in samples containing only oat bran (OEW) and the ones containing oat bran and alginate (OEA) (Table 3). Then again, previous studies have indicated that chia emulsion gels formulated with gelatin exhibited lower pH values than ones formulated with alginate (Pintado et al. 2015). These findings are consistent with the lower pH values found in oat emulsion gels and oil-free gels made with gelatin. For purposes of using these samples as fat replacers in foods such as meat products, it is important to bear in mind that all pH values (Table 3) are within the ranges reported in pork backfat (Jimenez-Colmenero et al. 2012), which implies that any of these samples show limitations for use as fat replacers in the reformulation of meat products.

There were no significant changes in pH values (ranging between 6.48 and 7.21 as noted above) during chilled and freezing/frozen storage, and therefore the data are not shown.

#### Colour measurement

Colour is essential in the development of fat analogues since it is one of the main factors determining the consumer's choice of foods, including meat products. Colour parameters, lightness ( $L^*$ ), redness ( $a^*$ ) and yellowness

( $b^*$ ), depend significantly on the oat/oil proportion and the presence of a gelling agent, with interaction ( $p < 0.05$ ) between these factors (Table 3). There was an increase ( $p < 0.05$ ) in lightness when the proportion of oat bran increased (and that of olive oil decreased) in samples without an added gelling agent and with alginate (Table 3). However, the samples containing gelatin registered lower ( $p < 0.05$ ) lightness when oat bran content increased. A comparison of emulsion gels with similar oat/oil proportions showed that only from 12/40 to 22/15 did the presence of alginate or gelatin produce an increase in lightness (Table 3). Increasing oat bran and reducing olive oil produced an increase in  $a^*$  and a decrease in  $b^*$  in all samples (Table 3). A significant positive ( $r = 0.855$ ,  $p < 0.0000$ ) and negative ( $r = -0.735$ ,  $p < 0.0000$ ) correlation was observed between addition of oat bran and  $a^*$  and  $b^*$  respectively; these correlations were the reverse in the case of olive oil, while non-significant correlations were found between  $a^*$  and  $b^*$  and the presence of a gelling agent. Increasing redness with the addition of oat bran may be related to a higher concentration of  $\beta$ -glucans, which are reported to confer a darker colour and greater redness in certain bakery end-products (Lazaridou et al. 2003). The decrease in  $b^*$  could be attributed both to the yellowish-green hue of olive oil (Pintado et al. 2015) and to the addition of barley  $\beta$ -glucans, which have been found to result in products with lower brightness and yellowness (Lazaridou and Biliaderis 2007). Compared to animal fat, the oat emulsion gels registered similar values of  $L^*$  (Jimenez-Colmenero et al. 2012), but less redness and more yellowness, probably due to the olive oil and oat bran. However, oil-free oat gels registered similar redness to pork back fat.

There were no significant variations in the colour parameters ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) of oat emulsion gels and oil-free gels during chilled and freezing/frozen storage, and therefore the data included in Table 3. Pintado et al. (2015) also observed that lightness in chia emulsion gels formulated with alginate or gelatin did not vary during storage, but at the end of storage there was a significant increase in  $a^*$  in oat emulsion gel containing these gelling agents.

#### Textural properties

Tables 4 and 5 show PF and GS of oat bran emulsion gels (OEW, OEA and OEG) and oil-free oat gels (OGW, OGA and OGG). Only emulsions OEW with the lowest oat/oil ratio OEW 12/40 and OEW 14/35 behaved like a viscous material, with no breaking point. All the other samples had a typical gel structure with a clear breaking point. PF were affected ( $p < 0.05$ ) by oat/oil proportions and gelling agent, with interaction ( $p < 0.05$ ) between these factors (Table 4). PF and GS increased in all samples when the

**Table 3** pH values and colour parameters (L\* lightness, a\* redness and b\* yellowness) of oat emulsion gels and oil-free gels

Samples <sup>a</sup>	pH	Colour parameters		
		L*	a*	b*
OEW 12/40	7.20 ± 0.00 <sup>kl</sup>	62.66 ± 1.34 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.07 <sup>bc</sup>	19.93 ± 0.57 <sup>m</sup>
OEA 12/40	7.16 ± 0.00 <sup>k</sup>	65.68 ± 0.90 <sup>bcde</sup>	0.88 ± 0.08 <sup>bc</sup>	19.57 ± 0.22 <sup>m</sup>
OEG 12/40	6.48 ± 0.04 <sup>a</sup>	76.76 ± 1.01 <sup>m</sup>	0.37 ± 0.09 <sup>a</sup>	17.85 ± 0.19 <sup>ghij</sup>
OEW 14/35	7.17 ± 0.02 <sup>kl</sup>	62.95 ± 1.17 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.07 <sup>bc</sup>	19.44 ± 0.79 <sup>m</sup>
OEA 14/35	7.05 ± 0.01 <sup>ij</sup>	67.46 ± 1.18 <sup>fgh</sup>	1.22 ± 0.25 <sup>ef</sup>	18.70 ± 0.29 <sup>l</sup>
OEG 14/35	6.59 ± 0.01 <sup>b</sup>	76.58 ± 0.49 <sup>m</sup>	0.52 ± 0.07 <sup>a</sup>	17.50 ± 0.31 <sup>efgh</sup>
OEW 16/30	7.18 ± 0.01 <sup>kl</sup>	63.18 ± 0.56 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.08 <sup>bcd</sup>	18.48 ± 0.38 <sup>ijkl</sup>
OEA 16/30	6.96 ± 0.01 <sup>g</sup>	67.11 ± 2.16 <sup>def</sup>	1.19 ± 0.30 <sup>def</sup>	18.68 ± 0.31 <sup>l</sup>
OEG 16/30	6.63 ± 0.02 <sup>b</sup>	73.97 ± 0.84 <sup>l</sup>	0.78 ± 0.08 <sup>b</sup>	17.35 ± 0.38 <sup>defg</sup>
OEW 18/25	7.19 ± 0.01 <sup>kl</sup>	64.09 ± 0.46 <sup>ab</sup>	1.07 ± 0.08 <sup>cde</sup>	17.61 ± 0.40 <sup>fgh</sup>
OEA 18/25	7.01 ± 0.01 <sup>h</sup>	70.91 ± 0.51 <sup>k</sup>	1.87 ± 0.09 <sup>i</sup>	18.55 ± 0.33 <sup>kl</sup>
OEG 18/25	6.71 ± 0.11 <sup>c</sup>	70.10 ± 1.42 <sup>jk</sup>	1.41 ± 0.10 <sup>fg</sup>	18.04 ± 0.29 <sup>hijk</sup>
OEW 20/20	7.21 ± 0.01 <sup>l</sup>	65.30 ± 1.01 <sup>bcd</sup>	1.31 ± 0.22 <sup>f</sup>	17.67 ± 0.23 <sup>fghi</sup>
OEA 20/20	7.03 ± 0.04 <sup>hi</sup>	68.23 ± 1.56 <sup>fghi</sup>	1.60 ± 0.23 <sup>gh</sup>	18.29 ± 0.30 <sup>ijkl</sup>
OEG 20/20	6.76 ± 0.01 <sup>d</sup>	68.19 ± 1.13 <sup>fghi</sup>	1.74 ± 0.11 <sup>hi</sup>	17.91 ± 0.50 <sup>ghij</sup>
OEW 22/15	7.08 ± 0.01 <sup>j</sup>	66.97 ± 0.52 <sup>cdef</sup>	1.24 ± 0.09 <sup>ef</sup>	16.59 ± 0.27 <sup>abc</sup>
OEA 22/15	6.94 ± 0.01 <sup>g</sup>	69.69 ± 0.77 <sup>ijk</sup>	1.77 ± 0.11 <sup>hi</sup>	17.48 ± 0.26 <sup>efgh</sup>
OEG 22/15	6.79 ± 0.01 <sup>de</sup>	68.38 ± 0.60 <sup>fghij</sup>	1.73 ± 0.04 <sup>hi</sup>	17.21 ± 0.35 <sup>cdef</sup>
OEW 24/10	7.06 ± 0.01 <sup>ij</sup>	67.42 ± 0.94 <sup>efg</sup>	1.23 ± 0.12 <sup>ef</sup>	16.23 ± 0.22 <sup>ab</sup>
OEA 24/10	6.95 ± 0.00 <sup>g</sup>	69.44 ± 1.20 <sup>hijk</sup>	1.94 ± 0.13 <sup>ij</sup>	17.55 ± 0.14 <sup>fgh</sup>
OEG 24/10	6.80 ± 0.01 <sup>de</sup>	68.09 ± 0.57 <sup>fghi</sup>	1.94 ± 0.08 <sup>ijk</sup>	17.12 ± 0.28 <sup>cdef</sup>
OEW 26/5	7.07 ± 0.01 <sup>j</sup>	67.49 ± 0.85 <sup>efg</sup>	1.86 ± 0.12 <sup>i</sup>	16.58 ± 0.29 <sup>abc</sup>
OEA 26/5	6.94 ± 0.01 <sup>g</sup>	68.99 ± 0.81 <sup>ghij</sup>	1.97 ± 0.08 <sup>ijk</sup>	17.51 ± 0.12 <sup>efgh</sup>
OEG 26/5	6.85 ± 0.01 <sup>f</sup>	66.92 ± 0.83 <sup>cdef</sup>	1.88 ± 0.12 <sup>i</sup>	16.13 ± 0.25 <sup>ab</sup>
OGW 28/0	7.08 ± 0.01 <sup>i</sup>	66.30 ± 0.63 <sup>cdef</sup>	2.16 ± 0.10 <sup>ijkl</sup>	16.76 ± 0.18 <sup>bcd</sup>
OGA 28/0	6.94 ± 0.01 <sup>g</sup>	67.73 ± 0.32 <sup>fgh</sup>	2.36 ± 0.24 <sup>l</sup>	16.90 ± 0.46 <sup>cde</sup>
OGG 28/0	6.83 ± 0.02 <sup>ef</sup>	65.20 ± 1.33 <sup>bc</sup>	2.19 ± 0.10 <sup>kl</sup>	16.03 ± 0.27 <sup>a</sup>

Mean ± standard deviation. Different lowercase letters in superscript for each parameter indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences

<sup>a</sup> For sample description see Table 1

proportion of oat bran increased and that of oil decreased. In all gelling systems (OEW, OEA or OEG) (Tables 4, 5) both PF and GS were also significantly dependent on the presence of alginate or gelatin; in the case of samples containing the same proportion of oat/oil, PF and GS were greater ( $p < 0.05$ ) in the samples containing alginate or gelatin (Tables 4, 5). Oat bran emulsion gels between 12/40 and 18/25 with gelatin (OEG) registered higher ( $p < 0.05$ ) PF than those containing alginate (OEA), while from 22/15 to 26/5 PF was the highest ( $p < 0.05$ ) in the samples containing alginate (Tables 4, 5). The pattern was similar for GS except in 18/25 samples. Oil-free oat gels registered the highest ( $p < 0.05$ ) PF and GS values, particularly the ones containing alginate (OGA 28/0) (Tables 4, 5). Textural properties of these oat emulsion gels and oil-free gels are consistent (in the same range) with other animal fat replacers (emulsions, emulsion gels,

oil bulking agent, etc.) (Jimenez-Colmenero et al. 2012; Pintado et al. 2015) used in the reformulation of meat products with optimal texture behaviour (Jiménez-Colmenero et al. 2010; Pintado et al. 2016).

These results indicate that oat bran, olive oil, and alginate or gelatin in the case of emulsion gels or oat bran and these gelling agents in the case of oil-free gels, influence sample textural properties. For instance, there was a significant positive correlation between PF ( $r = 0.712$ ,  $p < 0.0000$ ) and GS ( $r = 0.631$ ,  $p < 0.0000$ ) and the proportion of added oat bran. These correlations were negative for olive oil content in oat emulsion gels [PF ( $r = -0.650$ ,  $p < 0.0000$ ); GS ( $r = -0.535$ ,  $p < 0.0000$ )]. A positive correlation was also found between gelling agent and PF ( $r = 0.641$ ,  $p < 0.0001$ ) and GS ( $r = 0.600$ ,  $p < 0.0007$ ). And again, there was a positive correlation between PF ( $r = 0.641$ ,  $p < 0.0000$ ) and GS ( $r = 0.570$ ,  $p < 0.0000$ )

**Table 4** Penetration force of oat emulsion gels and oil-free gels during chilled and freezing/frozen storage

Samples <sup>a</sup>	Day 0	Chilled storage		Frozen storage	
		Day 6	Day 15	Day 1	Day 15
OEW 12/40	–	–	–	–	–
OEA 12/40	0.24 ± 0.01 <sup>bc</sup> <sub>AX</sub>	0.36 ± 0.01 <sup>b</sup> <sub>C</sub>	0.31 ± 0.04 <sup>ab</sup> <sub>B</sub>	0.33 ± 0.03 <sup>a</sup> <sub>Y</sub>	0.23 ± 0.01 <sup>a</sup> <sub>X</sub>
OEG 12/40	0.67 ± 0.04 <sup>gh</sup> <sub>AX</sub>	0.92 ± 0.03 <sup>fg</sup> <sub>B</sub>	1.04 ± 0.02 <sup>hi</sup> <sub>C</sub>	0.73 ± 0.05 <sup>bc</sup> <sub>X</sub>	0.70 ± 0.06 <sup>c</sup> <sub>X</sub>
OEW 14/35	–	–	–	–	–
OEA 14/35	0.30 ± 0.03 <sup>c</sup> <sub>AX</sub>	0.59 ± 0.03 <sup>d</sup> <sub>B</sub>	0.57 ± 0.03 <sup>cd</sup> <sub>B</sub>	0.44 ± 0.03 <sup>a</sup> <sub>Z</sub>	0.38 ± 0.02 <sup>b</sup> <sub>Y</sub>
OEG 14/35	0.64 ± 0.01 <sup>ef</sup> <sub>AX</sub>	1.07 ± 0.03 <sup>hi</sup> <sub>B</sub>	1.25 ± 0.08 <sup>jk</sup> <sub>C</sub>	0.90 ± 0.08 <sup>d</sup> <sub>Z</sub>	0.77 ± 0.03 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>
OEW 16/30	0.13 ± 0.00 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	0.25 ± 0.01 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	0.21 ± 0.01 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	0.41 ± 0.02 <sup>a</sup> <sub>Z</sub>	0.38 ± 0.02 <sup>b</sup> <sub>Y</sub>
OEA 16/30	0.48 ± 0.03 <sup>d</sup> <sub>AX</sub>	0.75 ± 0.03 <sup>e</sup> <sub>B</sub>	0.77 ± 0.05 <sup>ef</sup> <sub>B</sub>	0.61 ± 0.04 <sup>b</sup> <sub>Y</sub>	0.53 ± 0.03 <sup>b</sup> <sub>X</sub>
OEG 16/30	0.76 ± 0.02 <sup>fg</sup> <sub>AX</sub>	1.09 ± 0.03 <sup>hi</sup> <sub>C</sub>	0.98 ± 0.08 <sup>gh</sup> <sub>B</sub>	0.89 ± 0.06 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>	1.01 ± 0.05 <sup>efg</sup> <sub>Z</sub>
OEW 18/25	0.20 ± 0.01 <sup>ab</sup> <sub>AX</sub>	0.34 ± 0.01 <sup>ab</sup> <sub>B</sub>	0.31 ± 0.02 <sup>ab</sup> <sub>B</sub>	0.61 ± 0.03 <sup>b</sup> <sub>Z</sub>	0.53 ± 0.04 <sup>b</sup> <sub>Y</sub>
OEA 18/25	0.64 ± 0.06 <sup>ef</sup> <sub>AX</sub>	0.99 ± 0.02 <sup>gh</sup> <sub>B</sub>	1.00 ± 0.08 <sup>gh</sup> <sub>B</sub>	0.83 ± 0.04 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>	0.98 ± 0.06 <sup>ef</sup> <sub>Z</sub>
OEG 18/25	0.75 ± 0.11 <sup>gh</sup> <sub>AX</sub>	1.04 ± 0.04 <sup>h</sup> <sub>B</sub>	1.16 ± 0.05 <sup>ij</sup> <sub>C</sub>	0.75 ± 0.05 <sup>bc</sup> <sub>X</sub>	0.78 ± 0.05 <sup>cd</sup> <sub>X</sub>
OEW 20/20	0.27 ± 0.01 <sup>bc</sup> <sub>AX</sub>	0.49 ± 0.02 <sup>c</sup> <sub>B</sub>	0.43 ± 0.05 <sup>bc</sup> <sub>B</sub>	0.79 ± 0.10 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>	0.74 ± 0.04 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>
OEA 20/20	0.78 ± 0.05 <sup>h</sup> <sub>AX</sub>	1.33 ± 0.06 <sup>i</sup> <sub>B</sub>	1.31 ± 0.02 <sup>k</sup> <sub>B</sub>	1.27 ± 0.05 <sup>f</sup> <sub>Z</sub>	1.16 ± 0.05 <sup>e</sup> <sub>Y</sub>
OEG 20/20	0.76 ± 0.02 <sup>gh</sup> <sub>AX</sub>	1.06 ± 0.03 <sup>h</sup> <sub>B</sub>	1.25 ± 0.04 <sup>jk</sup> <sub>C</sub>	0.87 ± 0.03 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>	0.88 ± 0.03 <sup>de</sup> <sub>Y</sub>
OEW 22/15	0.42 ± 0.01 <sup>d</sup> <sub>AX</sub>	0.64 ± 0.01 <sup>d</sup> <sub>B</sub>	0.66 ± 0.02 <sup>de</sup> <sub>B</sub>	1.07 ± 0.03 <sup>e</sup> <sub>Z</sub>	0.99 ± 0.05 <sup>ef</sup> <sub>Y</sub>
OEA 22/15	1.23 ± 0.04 <sup>k</sup> <sub>AX</sub>	1.81 ± 0.03 <sup>m</sup> <sub>B</sub>	1.79 ± 0.06 <sup>m</sup> <sub>B</sub>	1.47 ± 0.04 <sup>gh</sup> <sub>Y</sub>	1.51 ± 0.09 <sup>i</sup> <sub>Y</sub>
OEG 22/15	0.92 ± 0.03 <sup>i</sup> <sub>AX</sub>	1.31 ± 0.05 <sup>j</sup> <sub>B</sub>	1.46 ± 0.04 <sup>l</sup> <sub>C</sub>	1.18 ± 0.16 <sup>ef</sup> <sub>Y</sub>	1.12 ± 0.08 <sup>fg</sup> <sub>X</sub>
OEW 24/10	0.58 ± 0.00 <sup>e</sup> <sub>AX</sub>	0.86 ± 0.03 <sup>i</sup> <sub>B</sub>	0.89 ± 0.03 <sup>fg</sup> <sub>B</sub>	1.46 ± 0.08 <sup>gh</sup> <sub>Z</sub>	1.31 ± 0.03 <sup>h</sup> <sub>Y</sub>
OEA 24/10	1.78 ± 0.02 <sup>mn</sup> <sub>AX</sub>	1.97 ± 0.10 <sup>n</sup> <sub>B</sub>	2.48 ± 0.16 <sup>c</sup> <sub>C</sub>	1.57 ± 0.03 <sup>h</sup> <sub>X</sub>	1.77 ± 0.04 <sup>i</sup> <sub>X</sub>
OEG 24/10	1.10 ± 0.01 <sup>j</sup> <sub>AX</sub>	1.65 ± 0.04 <sup>l</sup> <sub>B</sub>	1.77 ± 0.03 <sup>m</sup> <sub>B</sub>	1.31 ± 0.07 <sup>fg</sup> <sub>Y</sub>	1.40 ± 0.06 <sup>hi</sup> <sub>Y</sub>
OEW 26/5	0.69 ± 0.04 <sup>fg</sup> <sub>AX</sub>	1.17 ± 0.04 <sup>i</sup> <sub>B</sub>	1.17 ± 0.02 <sup>ijk</sup> <sub>B</sub>	2.09 ± 0.15 <sup>l</sup> <sub>Y</sub>	1.99 ± 0.07 <sup>k</sup> <sub>Y</sub>
OEA 26/5	1.86 ± 0.03 <sup>n</sup> <sub>AX</sub>	2.72 ± 0.08 <sup>p</sup> <sub>C</sub>	2.50 ± 0.10 <sup>o</sup> <sub>B</sub>	2.62 ± 0.04 <sup>k</sup> <sub>Y</sub>	2.84 ± 0.05 <sup>n</sup> <sub>Z</sub>
OEG 26/5	1.41 ± 0.01 <sup>l</sup> <sub>AX</sub>	1.86 ± 0.03 <sup>m</sup> <sub>B</sub>	2.18 ± 0.03 <sup>c</sup> <sub>C</sub>	1.74 ± 0.04 <sup>i</sup> <sub>Y</sub>	1.86 ± 0.06 <sup>jk</sup> <sub>Z</sub>
OGW 28/0	1.01 ± 0.04 <sup>j</sup> <sub>AX</sub>	1.52 ± 0.03 <sup>k</sup> <sub>B</sub>	1.45 ± 0.06 <sup>l</sup> <sub>B</sub>	2.60 ± 0.05 <sup>k</sup> <sub>Y</sub>	2.66 ± 0.07 <sup>m</sup> <sub>Y</sub>
OGA 28/0	2.25 ± 0.05 <sup>o</sup> <sub>AX</sub>	2.64 ± 0.09 <sup>p</sup> <sub>B</sub>	3.03 ± 0.06 <sup>p</sup> <sub>C</sub>	3.35 ± 0.10 <sup>l</sup> <sub>Y</sub>	3.80 ± 0.11 <sup>o</sup> <sub>Z</sub>
OGG 28/0	1.72 ± 0.05 <sup>m</sup> <sub>AX</sub>	2.35 ± 0.03 <sup>o</sup> <sub>B</sub>	2.40 ± 0.12 <sup>o</sup> <sub>B</sub>	2.25 ± 0.02 <sup>i</sup> <sub>Y</sub>	2.42 ± 0.17 <sup>l</sup> <sub>Y</sub>

Mean ± standard deviation. Different lowercase letters in superscript (from a to p) in the same column indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences. Different capital letters in subscript for chilled storage (A, B, C) and frozen storage (X, Y, Z) indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences for each type of oat emulsion gel or oil-free gel with the same oat/olive oil proportion

<sup>a</sup> For sample description see Table 1. Puncture force not shown for samples OEW 12/40 and OEW 14/35

and added water, since these factors affect technological properties of the sample components, mainly oats (proteins and  $\beta$ -glucan), such as solubility, emulsifying ability and gel-forming ability (Lazaridou and Biliaderis 2007).

The increase in sample firmness with increased oat bran content (Tables 4, 5) could be due to the potential of oat  $\beta$ -glucan and oat globulin protein as stabilizers in emulsion-type food products, and to their good gelling properties. In that respect some authors have shown that barley  $\beta$ -glucan contribute to the formation of gelled network (Burkus and Temelli 2000). Lazaridou and Biliaderis (2007) reported an increase in strength and a decrease in brittleness of oat gel with increasing concentration and molecular weight of polymer  $\beta$ -glucan. Other authors have reported an increase in the gelation rate with cereal  $\beta$ -glucan concentration but

as a function of gel cure temperature, peaking at 31 °C (Vaikousi et al. 2004). It has been reported that addition of  $\beta$ -glucan affects textural behaviour, for instance in low-fat cake where the addition of cereal  $\beta$ -glucan concentrates increased hardness (Kalinga and Mishra 2009), or in low-fat white-brined cheese where the texture of the product was stronger (Volikakis et al. 2004).

Differences in oat protein/fat ratios affect the characteristics of the matrix formed in each sample. In this regard, a decrease in fat content and an increase in oat will raise the “effective” concentration of the protein that acts to form the gel/emulsion matrix. The increase in protein concentration in the continuous phase of the emulsion generally gave rise to an increase in the number of locations on the polypeptide chains that are capable of

**Table 5** Gel strength (mJ) of oat emulsion gels and oil-free gels during chilled and freezing/frozen storage

Samples <sup>a</sup>	Day 0	Chilled storage		Frozen storage	
		Day 6	Day 15	Day 1	Day 15
OEW 12/40	–	–	–	–	–
OEA 12/40	0.45 ± 0.03 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	0.81 ± 0.01 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	0.71 ± 0.12 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	0.94 ± 0.30 <sup>a</sup> <sub>Y</sub>	0.56 ± 0.07 <sup>a</sup> <sub>X</sub>
OEG 12/40	1.79 ± 0.20 <sup>de</sup> <sub>AY</sub>	2.06 ± 0.20 <sup>cdef</sup> <sub>B</sub>	2.33 ± 0.24 <sup>cde</sup> <sub>C</sub>	1.27 ± 0.12 <sup>a</sup> <sub>X</sub>	1.24 ± 0.15 <sup>abc</sup> <sub>X</sub>
OEW 14/35	–	–	–	–	–
OEA 14/35	0.65 ± 0.16 <sup>ab</sup> <sub>AX</sub>	1.41 ± 0.12 <sup>abc</sup> <sub>B</sub>	1.40 ± 0.29 <sup>abc</sup> <sub>B</sub>	1.01 ± 0.10 <sup>a</sup> <sub>Y</sub>	0.83 ± 0.05 <sup>ab</sup> <sub>XY</sub>
OEG 14/35	1.99 ± 0.26 <sup>defg</sup> <sub>AX</sub>	2.28 ± 0.04 <sup>def</sup> <sub>B</sub>	2.77 ± 0.36 <sup>defg</sup> <sub>B</sub>	1.60 ± 0.19 <sup>ab</sup> <sub>X</sub>	1.64 ± 0.13 <sup>cde</sup> <sub>X</sub>
OEW 16/30	0.28 ± 0.04 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	0.68 ± 0.14 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	0.49 ± 0.04 <sup>a</sup> <sub>AB</sub>	1.14 ± 0.17 <sup>a</sup> <sub>Y</sub>	1.49 ± 0.15 <sup>bc</sup> <sub>Y</sub>
OEA 16/30	1.28 ± 0.19 <sup>bcd</sup> <sub>AX</sub>	1.91 ± 0.16 <sup>bcd</sup> <sub>B</sub>	1.90 ± 0.6 <sup>bcd</sup> <sub>B</sub>	1.44 ± 0.21 <sup>ab</sup> <sub>X</sub>	1.33 ± 0.13 <sup>bc</sup> <sub>X</sub>
OEG 16/30	2.05 ± 0.06 <sup>efg</sup> <sub>AY</sub>	2.07 ± 0.12 <sup>cdef</sup> <sub>A</sub>	2.09 ± 0.23 <sup>cd</sup> <sub>A</sub>	1.40 ± 0.10 <sup>ab</sup> <sub>X</sub>	1.87 ± 0.12 <sup>cde</sup> <sub>XY</sub>
OEW 18/25	0.42 ± 0.03 <sup>a</sup> <sub>AX</sub>	0.84 ± 0.10 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	0.59 ± 0.04 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	1.87 ± 0.07 <sup>abc</sup> <sub>Y</sub>	1.75 ± 0.05 <sup>abc</sup> <sub>Y</sub>
OEA 18/25	1.50 ± 0.12 <sup>cde</sup> <sub>AX</sub>	2.54 ± 0.26 <sup>ef</sup> <sub>B</sub>	2.58 ± 0.56 <sup>def</sup> <sub>B</sub>	2.07 ± 0.10 <sup>abc</sup> <sub>Y</sub>	2.21 ± 0.11 <sup>defg</sup> <sub>Y</sub>
OEG 18/25	1.63 ± 0.25 <sup>cde</sup> <sub>AX</sub>	2.17 ± 0.36 <sup>cdef</sup> <sub>A</sub>	3.23 ± 0.78 <sup>efg</sup> <sub>B</sub>	1.37 ± 0.09 <sup>a</sup> <sub>X</sub>	1.59 ± 0.13 <sup>cd</sup> <sub>X</sub>
OEW 20/20	0.59 ± 0.03 <sup>ab</sup> <sub>AX</sub>	1.17 ± 0.04 <sup>ab</sup> <sub>B</sub>	0.86 ± 0.19 <sup>ab</sup> <sub>B</sub>	2.93 ± 0.44 <sup>cd</sup> <sub>Z</sub>	2.33 ± 0.16 <sup>efg</sup> <sub>Z</sub>
OEA 20/20	1.75 ± 0.16 <sup>de</sup> <sub>AX</sub>	3.42 ± 0.45 <sup>gh</sup> <sub>B</sub>	3.50 ± 0.37 <sup>fg</sup> <sub>B</sub>	3.36 ± 0.19 <sup>de</sup> <sub>Z</sub>	2.89 ± 0.21 <sup>gh</sup> <sub>Z</sub>
OEG 20/20	1.61 ± 0.23 <sup>cde</sup> <sub>AX</sub>	1.72 ± 0.22 <sup>bcd</sup> <sub>A</sub>	2.53 ± 0.29 <sup>def</sup> <sub>B</sub>	1.93 ± 0.18 <sup>abc</sup> <sub>Y</sub>	1.73 ± 0.12 <sup>cde</sup> <sub>X</sub>
OEW 22/15	0.96 ± 0.06 <sup>abc</sup> <sub>AX</sub>	1.85 ± 0.24 <sup>bcd</sup> <sub>B</sub>	1.98 ± 0.28 <sup>cd</sup> <sub>B</sub>	3.69 ± 0.17 <sup>de</sup> <sub>Y</sub>	3.37 ± 0.17 <sup>gh</sup> <sub>Y</sub>
OEA 22/15	3.38 ± 0.35 <sup>hi</sup> <sub>AX</sub>	5.26 ± 0.40 <sup>ij</sup> <sub>B</sub>	5.05 ± 0.34 <sup>j</sup> <sub>B</sub>	4.22 ± 0.25 <sup>ef</sup> <sub>Y</sub>	3.50 ± 0.43 <sup>hi</sup> <sub>X</sub>
OEG 22/15	1.94 ± 0.28 <sup>def</sup> <sub>AX</sub>	2.72 ± 0.36 <sup>fg</sup> <sub>B</sub>	3.34 ± 0.65 <sup>efg</sup> <sub>B</sub>	2.59 ± 0.23 <sup>bcd</sup> <sub>Y</sub>	2.54 ± 0.33 <sup>fg</sup> <sub>Y</sub>
OEW 24/10	1.57 ± 0.11 <sup>cde</sup> <sub>AX</sub>	2.64 ± 0.10 <sup>efg</sup> <sub>B</sub>	2.68 ± 0.18 <sup>defg</sup> <sub>B</sub>	5.08 ± 0.51 <sup>fg</sup> <sub>Z</sub>	4.05 ± 0.10 <sup>i</sup> <sub>Y</sub>
OEA 24/10	4.87 ± 0.53 <sup>j</sup> <sub>AY</sub>	5.67 ± 0.36 <sup>j</sup> <sub>B</sub>	7.11 ± 0.52 <sup>k</sup> <sub>C</sub>	5.75 ± 0.29 <sup>g</sup> <sub>Z</sub>	3.88 ± 0.05 <sup>i</sup> <sub>X</sub>
OEG 24/10	1.99 ± 0.15 <sup>efg</sup> <sub>AX</sub>	3.70 ± 0.36 <sup>h</sup> <sub>B</sub>	3.55 ± 0.14 <sup>fgh</sup> <sub>B</sub>	2.93 ± 0.40 <sup>cd</sup> <sub>Y</sub>	2.51 ± 0.23 <sup>fg</sup> <sub>Y</sub>
OEW 26/5	1.43 ± 0.09 <sup>cde</sup> <sub>AX</sub>	3.56 ± 0.13 <sup>h</sup> <sub>B</sub>	3.65 ± 0.23 <sup>ghi</sup> <sub>B</sub>	7.85 ± 1.02 <sup>h</sup> <sub>Y</sub>	6.83 ± 0.22 <sup>k</sup> <sub>Y</sub>
OEA 26/5	5.43 ± 0.78 <sup>j</sup> <sub>AX</sub>	8.45 ± 0.84 <sup>k</sup> <sub>C</sub>	7.19 ± 1.08 <sup>k</sup> <sub>B</sub>	8.70 ± 0.72 <sup>h</sup> <sub>Z</sub>	6.90 ± 0.44 <sup>k</sup> <sub>Z</sub>
OEG 26/5	2.51 ± 0.37 <sup>fg</sup> <sub>AX</sub>	3.57 ± 0.34 <sup>h</sup> <sub>B</sub>	4.68 ± 0.35 <sup>ij</sup> <sub>B</sub>	4.32 ± 0.80 <sup>ef</sup> <sub>Y</sub>	5.19 ± 0.32 <sup>jl</sup> <sub>Z</sub>
OGW 28/0	2.69 ± 0.53 <sup>gh</sup> <sub>AX</sub>	4.68 ± 0.37 <sup>i</sup> <sub>B</sub>	4.61 ± 0.32 <sup>hij</sup> <sub>B</sub>	12.11 ± 0.95 <sup>i</sup> <sub>Z</sub>	9.11 ± 0.28 <sup>l</sup> <sub>Y</sub>
OGA 28/0	6.72 ± 0.36 <sup>k</sup> <sub>AX</sub>	10.67 ± 0.79 <sup>l</sup> <sub>C</sub>	9.08 ± 0.47 <sup>l</sup> <sub>B</sub>	11.83 ± 1.36 <sup>i</sup> <sub>Y</sub>	10.79 ± 0.35 <sup>m</sup> <sub>Y</sub>
OGG 28/0	3.93 ± 0.41 <sup>i</sup> <sub>AX</sub>	5.16 ± 0.18 <sup>ij</sup> <sub>B</sub>	5.40 ± 0.80 <sup>j</sup> <sub>B</sub>	6.23 ± 0.32 <sup>g</sup> <sub>Y</sub>	6.85 ± 0.97 <sup>k</sup> <sub>Y</sub>

Mean ± standard deviation. Different lowercase letters in superscript (from a to m) in the same column indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences. Different capital letters in subscript for chilled storage (A, B, C) and frozen storage (X, Y, Z) indicate significant ( $p < 0.05$ ) differences for each type of oat emulsion gel or oil-free gel with the same oat/olive oil proportion

<sup>a</sup> For sample description see Table 1. Gel textural behavior not shown for samples OEW 12/40 and OEW 14/35

interacting to form a gel, a phenomenon associated with products having harder structures (Tables 4, 5) and with higher binding properties (Table 2). A similar explanation has been proposed for the effect produced by differing fat content on meat product characteristics (Jimenez-Colmenero et al. 1995). The increase in firmness observed with an increasing oat/oil ratio and with the presence of alginate or gelatin may also be related to emulsion droplet size. In this connection, some authors working with emulsion gels have posited that increased firmness and gel strength indicates the presence of small emulsion droplets which can reinforce the network structure by acting as anchor points, consequently increasing gel strength (Dickinson 2012).

Also relevant is the role of alginate or gelatin, since samples containing these gelling agents exhibited the greatest firmness (Table 4). Alginate is of particular interest due to its ability to form gels consisting of polymeric molecules cross-linked to form a three-dimensional macromolecular network containing a large water fraction in the structure and displaying mechanical rigidity (Roopa and Bhattacharya 2010). Additionally, gelatin also possesses gel-forming capacity through which to create a structural network with relatively higher gel strength (Sala et al. 2009).

During chilled storage PF and GS increased ( $p < 0.05$ ) in all samples except OEG 16/30 and OEW 18/25. This increase in PF and GS during storage was generally more



pronounced in samples containing alginate or gelatin (Tables 4, 5); in the samples containing gelatin the effect on PF was particularly marked. It has been reported that  $\beta$ -glucan addition considerably improved the creaming stability of emulsions during storage, possibly due to an increase in viscosity of the continuous phase and/or formation of a three-dimensional droplet network (Santipanichwong and Supphantharika 2009). This could account for the increase in PF and GS with storage time in the oat emulsion gels. Increased PF and GS have also been reported during chilled storage in emulsion gels formulated with chia and different cold gel agents (transglutaminase, alginate and gelatin) (Pintado et al. 2015). Some authors have reported increased hardness of cakes containing  $\beta$ -glucan concentrates over time under refrigeration conditions (4 °C) (Kalinga and Mishra 2009).

PF generally increased significantly during freezing/frozen storage (Table 4). Similarly, GS tended generally to increase during freezing/frozen storage, but in some cases the changes were not significant (Table 5). Increased hardness in frozen storage (−20 °C) has been reported in foods such as cakes containing  $\beta$ -glucan concentrates and it was indicative of staling (Kalinga and Mishra 2009).

## Conclusion

This research pointed to the possibilities of oat emulsion gels and oil-free oat gels for use as solid-like healthier ingredients which could replace fat and at the same time supply bioactive compounds, mainly  $\beta$ -glucan and MUFA, and specific technological properties which depend on the oat/olive oil proportions used.

The oat emulsion gels and oil-free oat gels have a considerable potential for use as ingredients in the development of nutritious foods, for example meat products, when used as animal fat replacers, depending on the amount used products containing them may qualify for nutrition and health claims under the EU Regulations.

The oat emulsion gels and oil-free oat gels offer a range of possible advantages, such as imparting appropriate texture colour and thermal stability to product. These technological properties could be modulated by the oat/oil proportions used in oat emulsion gels and oil-free oat gels. On a general note it is also important to highlight that during chilled and frozen storage while there were slight changes in some technological properties like stronger texture or lower thermal stability (in samples OEW and OEA from 12/40 to 16/30) other properties such as pH or colour were unchanged. This makes them particularly suitable for addition to a food matrix in the development of novel functional foods such as healthier meat products which are habitually stored in these conditions.

**Acknowledgements** The authors wish to thank MINECO, CAM and CSIC for financial support of this investigation, Projects AGL2014-53207-C2-1-R, S2013/AGR-2913 (MEDGAN), 2014470E073 and 201470E056.

## References

- Arendt EK, Zannini E (2013) Oats. In: Zannini E, Arendt EK (eds) *Cereal grains for the food and beverages industries*. Woodhead, Cambridge, pp 238e–243e
- Brummer Y, Defelice C, Wu Y, Kwong M, Wood PJ, Tosh SM (2014) Textural and rheological properties of oat beta-glucan gels with varying molecular weight composition. *J Agric Food Chem* 62:3160–3167
- Burkus Z, Temelli F (2000) Stabilization of emulsions and foams using barley beta-glucan. *Food Res Int* 33:27–33
- Delgado-Pando G, Cofrades S, Ruiz-Capillas C, Solas MT, Jimenez-Colmenero F (2010) Healthier lipid combination oil-in-water emulsions prepared with various protein systems: an approach for development of functional meat products. *Eur J Lipid Sci Technol* 112:791–801
- Dickinson E (2012) Emulsion gels: the structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocoll* 28:224–241
- EFSA (2010) Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta-glucan and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to article 14 of regulation (EC) no 1924/2006. *EFSA J* 8:1885
- Jimenez-Colmenero F (2007) Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends Food Sci Technol* 18:567–578
- Jimenez-Colmenero F, Carballo J, Solas MT (1995) The effect of use of freeze-thawed pork on the properties of Bologna sausages with two fat levels. *Int J Food Sci Technol* 30:335–345
- Jimenez-Colmenero F, Cofrades S, Herrero AM, Fernandez-Martín F, Rodríguez-Salas L, Ruiz-Capillas C (2012) Konjac gel fat analogue for use in meat products: comparison with pork fats. *Food Hydrocoll* 26:63–72
- Jiménez-Colmenero F, Herrero A, Pintado T, Solas MT, Ruiz-Capillas C (2010) Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. *Food Res Int* 43:2068–2076
- Jimenez-Colmenero F, Salcedo-Sandoval L, Bou R, Cofrades S, Herrero AM, Ruiz-Capillas C (2015) Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Trends Food Sci Technol* 44:177–188
- Kalinga D, Mishra VK (2009) Rheological and physical properties of low fat cakes products by addition of cereal beta-glucan concentrates. *J Food Process Preserv* 33:384–400
- Klose C, Arendt EK (2012) Proteins in oats; their synthesis and changes during germination: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 52:629–639
- Kontogiorgos V, Biliaderis CG, Kiosseoglou V, Doxastakis G (2004) Stability and rheology of egg-yolk-stabilized concentrated emulsions containing cereal beta-glucans of varying molecular size. *Food Hydrocoll* 18:987–998
- Laine P, Toppinen E, Kivela R, Taavitsainen VM, Knuutila O, Sontag-Strohm T, Jouppila K, Lopenen J (2011) Emulsion preparation with modified oat bran: optimization of the emulsification process for microencapsulation purposes. *J Food Eng* 104:538–547
- Lazaridou A, Biliaderis CG (2007) Molecular aspects of cereal beta-glucan functionality: physical properties, technological applications and physiological effects. *J Cereal Sci* 46:101–118

- Lazaridou A, Biliaderis CG, Izydorczyk MS (2003) Molecular size effects on rheological properties of oat beta-glucans in solution and gels. *Food Hydrocoll* 17:693–712
- Malkki Y, Virtanen E (2001) Gastrointestinal effects of oat bran and oat gum—a review. *Lebensm Wiss Technol* 34:337–347
- Mehta N, Ahlawat SS, Sharma DP, Dabur RS (2015) Novel trends in development of dietary fiber rich meat products—a critical review. *J Food Sci Technol* 52:633–647
- Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C (2013) *Tablas de composición de alimentos. Guía de prácticas. Pirámide*, Madrid
- Parliament E (2006) Regulation (EC) of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Eur Comm* 1924/2006:3–18
- Parliament E (2012) Regulation (EU) of the European Parliament and of the Council of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. *Eur Comm* 432/2012:1–40
- Pintado T, Ruiz-Capillas C, Jimenez-Colmenero F, Carmona P, Herrero AM (2015) Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica* L.) and cold gelling agents: technological and infrared spectroscopic characterization. *Food Chem* 185:470–478
- Pintado T, Herrero AM, Jiménez-Colmenero F, Ruiz-Capillas C (2016) Strategies for incorporation of chia (*Salvia hispanica* L.) in frankfurters as a health-promoting ingredient. *Meat Sci* 114:75–84
- Roopa BS, Bhattacharya S (2010) Texturized alginate gels: screening experiments to identify the important variables on gel formation and their properties. *LWT Food Sci Technol* 43:1403–1408
- Sala G, van Vliet T, Stuart MAC, van Aken GA, van de Velde F (2009) Deformation and fracture of emulsion-filled gels: effect of oil content and deformation speed. *Food Hydrocoll* 23:1381–1393
- Santipanichwong R, Supphantharika M (2009) Influence of different beta-glucans on the physical and rheological properties of egg yolk stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocoll* 23:1279–1287
- Sato ACK, Moraes KEFP, Cunha RL (2014) Development of gelled emulsions with improved oxidative and pH stability. *Food Hydrocoll* 34:184–192
- Siu NC, Ma CY, Mock WY, Mine Y (2002) Functional properties of oat globulin modified by a calcium-independent microbial transglutaminase. *J Agric Food Chem* 50:2666–2672
- Storsrud S, Hulthen LR, Lenner RA (2003) Beneficial effects of oats in the gluten-free diet of adults with special reference to nutrient status, symptoms and subjective experiences. *Br J Nutr* 90:101–107
- Tapola N, Karvonen H, Niskanen L, Mikola M, Sarkkinen E (2005) Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc* 15:255–261
- Vaikousi H, Biliaderis CG, Izydorczyk MS (2004) Solution flow behavior and gelling properties of water-soluble barley (1 → 3, 1 → 4)-beta-glucans varying in molecular size. *J Cereal Sci* 39:119–137
- Volikakis P, Biliaderis CG, Vamvakas C, Zerfiridis GK (2004) Effects of a commercial oat-beta-glucan concentrate on the chemical, physico-chemical and sensory attributes of a low-fat white-brined cheese product. *Food Res Int* 37:83–94
- Wolever TMS, Tosh SM, Gibbs AL, Brand-Miller J, Duncan AM, Hart V, Lamarche B, Thomson BA, Duss R, Wood PJ (2010) Physicochemical properties of oat beta-glucan influence its ability to reduce serum LDL cholesterol in humans: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 92:723–732
- Wood PJ, Weisz J, Blackwell BA (1994) Structural studies of (1–3), (1–4)-beta-d-glucans by c(13)-nuclear magnetic-resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chem* 71:301–307

**4.4 Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological, and structural properties of frankfurters**

*Food Science and Technology International, 2015, 22, 132-145*







# Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological, and structural properties of frankfurters

T Pintado<sup>1</sup>, AM Herrero<sup>1</sup>, C Ruiz-Capillas<sup>1</sup>, M Triki<sup>2</sup>, P Carmona<sup>3</sup>  
and F Jiménez-Colmenero<sup>1</sup>

## Abstract

Emulsion gels prepared with olive oil, chia, and cold gelling agents (transglutaminase, alginate, or gelatin) were used as fat replacers in reduced-fat frankfurter formulation. Nutritional advantages, sensory analysis, technological properties, and microbiological populations of frankfurters were evaluated along with their lipid structural characteristics over chilled storage. Frankfurters with emulsion gels showed significant improvements in fat content (lower saturated fatty acid, higher mono- and polyunsaturated fatty acid contents) and had good fat and water-binding properties. The presence of an emulsion gel reduced lightness and redness, but increased yellowness. Textural behavior of samples was significantly affected by the presence of emulsion gels and by storage. Sensory properties were not affected by the incorporation of emulsion gels, and all frankfurters were judged acceptable. Attenuated total reflectance–Fourier transform infrared spectroscopy results showed that samples with emulsion gels involve more lipid–protein interactions. Frankfurters with emulsion gels showed good stability to oxidation during storage and contained lower levels of microorganism than reduced-fat control at 85 days.

## Keywords

Emulsion gel, olive oil, chia, frankfurter, technological properties, sensory analysis, lipid structure

Date received: 22 October 2014; revised: 20 January 2015; accepted: 27 January 2015

## INTRODUCTION

Healthier lipid formulation based on processing strategies is one of the most important current approaches to partial replacement of meat fats by others (plant or animal) more in line with optimal health intake recommendations (Jiménez-Colmenero, 2007).

In this regard, researchers have been looking at oil stabilization and structuring methods as a means to improve the technological and organoleptic suitability of these systems for use as fat replacers in meat processing. Rather than replacing solid fats with liquid oils,

modified or structured oils can be used to create a plastic fat that retains solid-like properties, and yet possesses a healthier fatty acid profile. These structuring methods include the creation of structured emulsions, interesterification, and organogelation (Zetzl et al., 2012).

Structuring edible oils as emulsion gels could be a promising and unexplored alternative for practical

<sup>1</sup>Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC), Madrid, Spain

<sup>2</sup>LAVASA-ENIS: Laboratory of Food Analysis, Valorization and Security of the School of Engineers of Sfax, Tunisia

<sup>3</sup>Institute for the Structure of Matter (CSIC), Madrid, Spain

### Corresponding author:

AM Herrero, Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC), José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, Spain.  
Email: ana.herrero@ictan.csic.es

application to the development of healthier lipid meat products. An emulsion gel is defined as an emulsion with a gel-like network structure and solid-like mechanical properties. The structural state of an oil-in-water (O/W) emulsion gel is a composite network based on the combination of aggregated emulsion droplets and cross-linked biopolymer molecules; this structural state determines its textural properties (Dickinson, 2013). Our group (Pintado et al., in press) recently developed and characterized various healthy O/W emulsion gels formulated with olive oil and chia (*Salvia hispanica* L.) (flour or seed) and assayed various strategies for gelling the continuous phase. Their technological and structural characteristics and the nutritional properties of these emulsion gels (presence of olive oil and chia) make them especially suitable for use as animal fat replacers in the design and development of healthier-functional foods, including meat products (Pintado et al., in press).

Olive oil is the most monounsaturated vegetable oil and has a high biological value, attributed to a favorable mix of predominantly monounsaturated fatty acids (MUFAs) and naturally occurring antioxidants (vitamin E, vitamin K, carotenoids, and various polyphenols). It has health benefits, including improvement of major risk factors for cardiovascular disease (CVD) such as lipoprotein profile, blood pressure, glucose metabolism, and antithrombotic profile (López-Miranda et al., 2006). Chia has interesting technological and health-beneficial properties (Ayerza and Coates, 2011; Olivos-Lugo et al., 2010). The technological properties include high water-holding capacity, water absorption capacity, and organic molecule absorption capacity, sufficient emulsifying activity to provide high emulsion stability (Olivos-Lugo et al., 2010), as well as interesting gelling properties (Coorey et al., 2014). Also, chia has been recommended for its lipid content (mainly its high  $\alpha$ -linolenic fatty acids), proteins, antioxidants, and dietary fiber content, all of which have a major positive impact on human health (Ayerza and Coates, 2011; Olivos-Lugo et al., 2010).

The aim of this experiment was to assess the suitability of emulsion gels containing olive oil and chia stabilized with various gelling agents (transglutaminase, alginate, and gelatin) for use as pork backfat replacers in reduced-fat (RF) frankfurter formulation. Potential nutritional advantages (fatty acid and mineral contents) were assessed and sensory analyses conducted. Technological properties (processing and purge losses, texture, color, and lipid oxidation), microbiological population, and structural characteristics of lipids (using attenuated total reflectance (ATR)–FTIR spectroscopy) of frankfurters were evaluated over storage (85 days at 2 °C). Normal fat (NF) and RF content (all-pork-fat) frankfurters were used as references.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Ingredients used for preparation of O/W emulsion gels included olive oil (Carbonell Virgen Extra, SOS Cuétara S.A., Madrid, Spain) (13% saturated fatty acid [SFA], 79% MUFA, 8% polyunsaturated fatty acid [PUFA]), chia flour (*S. hispanica* L.) with 22% protein, 31.3% lipid (60.8 mg  $\alpha$ -linolenic/kg chia), and 30.2% dietary fiber (Primaria Premium Raw Materials, S. L., Valencia, Spain), anhydrous tetra sodium pyrophosphate and calcium sulfate (Panreac Química, S.A., Madrid, Spain); sodium alginate (Tradissimo, TRADES S.A., Barcelona, Spain) and instant cold-soluble gelatin (84% protein content) 220° Bloom gelatin; sodium caseinate (86.4% protein content) (Manuel Riesgo, Madrid, Spain); and microbial transglutaminase (MTG) (ACTIVA EB, Ajimoto Europe sales GmbH, Hamburg, Germany).

Frankfurters were prepared with sufficient fresh post-rigor meat (mixture of biceps femoris, semimembranosus, semitendinosus, gracilis, and adductor muscles) (approximately 15 kg) and pork backfat (2 kg) purchased from a local market. The meat was trimmed of visible fat and connective tissue. Meat and backfat were passed through a grinder with a 0.6-cm plate (Van Dall SRL, Milano, Italy). Lots of approximately 1000 g were weighed and vacuum packed, frozen, and stored at −20 °C until used.

Other ingredients and additives were sodium chloride (Panreac Química S.A., Barcelona, Spain), sodium tripolyphosphate (Manuel Riesgo S.A., Madrid, Spain), sodium nitrite (Fulka Chemie GmbH, Buchs, Germany), and flavoring (Gewürzmüller, GmbH, München, Germany).

### Preparation of olive chia O/W emulsion gels

Three different O/W emulsion gels were formulated and prepared (in duplicate) following the procedure reported by Pintado et al. (in press). The three systems were formulated with water (41%), olive oil (52%), and chia flour (5%), and the following cold-gelling agents such as: (**T**) MTG (1%) and caseinate (1%); (**A**) sodium alginate (0.73%), CaSO<sub>4</sub> (0.73%) and pyrophosphate (0.54%); and (**G**) gelatin (2%). Each type of O/W emulsion gel was stored at 2 °C for 24 h until frankfurter preparation.

### Design and preparation of frankfurters

Frankfurters were prepared following the procedure reported by Jiménez-Colmenero et al. (2010). Five different frankfurters were formulated (Table 1)—two contained pork backfat (PF) (all animal fat), one with NF/PF and one with RF/PF content. Three RF

**Table 1.** Formulation (%) of frankfurters

Samples <sup>a</sup>	Meat	Pork backfat	Oil in water emulsion gel <sup>b</sup>			Water
			T	A	G	
NF/PF	63.0	21.0	–	–	–	13.2
RF/PF	63.0	13.0	–	–	–	21.2
RF/T	63.0	–	21.0	–	–	13.2
RF/A	63.0	–	–	21.0	–	13.2
RF/G	63.0	–	–	–	21.0	13.2

Note: NF, normal fat; RF, reduced fat.

Additives: 2.0 g/100 g NaCl; 0.3 g/100 g sodium tripolyphosphate; 0.5 g/100 g flavoring and 120 ppm sodium nitrite.

<sup>a</sup>Frankfurters formulated with pork backfat: normal fat (NF/PF) and reduced fat (RF/PF). Frankfurters formulated with O/W emulsion gel as pork backfat replacer: (a) with T O/W emulsion gel (RF/T), (b) with A O/W emulsion gel (RF/A), and (c) with G O/W emulsion gel (RF/CG).

<sup>b</sup>Olive oil-in-water emulsion gel prepared with chia flour and: (1) microbial transglutaminase (MTG) and caseinate (T); (2) sodium alginate, CaSO<sub>4</sub>, and pyrophosphate (A); (3) gelatin (G).

frankfurters were prepared in which all the pork backfat was replaced by the same proportion of the corresponding O/W emulsion gels (**T**, **A**, or **G**). All frankfurters formulations were prepared in duplicate.

Frankfurters were prepared in a Stephan Universal Machine UM5 (Stephan u. Söhne GmbH and Co., Hameln, Germany) at 2 °C. The meat batter was stuffed into 20 mm diameter Nojax cellulose casings (Viscase S.A., Bagnol Cedex, France). Samples were hand linked and heat processed in an Eller smokehouse (model Unimatic 1000, Micro 40, Eller, Merano, Italy). Frankfurters were then cooled (at room temperature), removed casings, vacuum packed in plastic bags (Cryovac® BB3050, Boi de Llobregat, Spain) and stored at 2 °C (±1 °C). Analyses were carried out at 0, 14, 27, 36, and 85 days.

### Proximate analysis and energy content

Moisture and ash contents of the frankfurters were determined (Association of Official Analytical Chemistry, 2005). Fat content was evaluated according to Bligh and Dyer (1959). Protein content was measured in a LECO FP-2000 Nitrogen Determinator (Leco Corporation, St Joseph, MI, USA). All determinations were performed in triplicate.

Energy value was calculated on a basis of 9.1 kcal/g for fat and 4.1 kcal/g for protein and carbohydrates. Carbohydrates content were calculated taking into account the ingredient composition and formulation content.

### Fatty acid composition

Fatty acid composition of the frankfurters was determined (in quintuplicate) by gas chromatography

as reported by López-López et al. (2009a). Results are expressed as milligrams of fatty acid per 100 g of product.

The atherogenic index (AI) and thrombogenic index (TI) were computed according to Ulbricht and Southgate (1991) as a ratio between some SFA and unsaturated fatty acids.

### Mineral content

Mineral content was determined according to López-López et al. (2009a). Briefly, samples were prepared by acid digestion and then minerals were quantified on ICP plasma spectrophotometer (Perkin-Elmer, Model 4300 DV, Norwalk, Connecticut, USA).

### Processing loss and purge loss

Processing loss of frankfurters was calculated in eight samples, as the weight loss (expressed as percentage of initial sample weight) occurring after heat processing and chilling overnight at 2 °C.

Two vacuum packs per formulation were used to determine purge loss at each storage time. After the frankfurters were removed from the package, the surface exudate (tiny drops) was wiped off with paper towels and the frankfurters were weighed again. The purge loss was calculated by weight difference and expressed as a percentage of the initial weight.

### pH and color measurement

The pH was determined using an 827 Metrohm pH-meter (MetrohmAG, Zofingen, Switzerland) at room temperature on homogenates of sample in distilled water in a ratio of 1:10 w/v. Four determinations were performed per sample.

Color, CIE-LAB tristimulus values, lightness,  $L^*$ ; redness,  $a^*$ ; and yellowness,  $b^*$  of frankfurter cross sections were immediately evaluated on a CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta Business Technologies, Tokyo, Japan). Ten determinations were performed per formulation.

### Lipid oxidation

Lipid oxidation was determined as a function of changes in thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) in triplicate for each sample (Serrano et al., 2006). Briefly, the procedure was as follows, 5 g of each sample was homogenized for 30 s (Omnimixer homogenizer, Omni International, Waterbury CT, USA), to precipitate the protein, in 35 ml of 7.5% trichloroacetic acid. The blender sample was filtered (Whatman No. 1) and 5 ml of the supernatant was mixed with 5 ml of 20 mM thiobarbituric acid; finally, the solution was kept in the dark for 20 h at  $20 \pm 1.5^\circ\text{C}$ . The pinkness that formed was measured spectrophotometrically (Shimadzu UV-1800 spectrophotometer, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) at 532 nm. Results were expressed as milligrams Malondialdehyde (MDA)/kg of sample.

### Textural profile analysis (TPA)

TPA was performed in a TA-XT.plus Texture Analyzer (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY, USA) as reported by Bourne (1978). Six cores (diameter = 20 mm, height = 20 mm) of each sample were axially compressed to 40% of their original height. Force–time deformation curves were obtained with a 5-kg load cell, applied at a crosshead speed of 1 mm/s. Attributes calculated were hardness (N), cohesiveness (adimensional), springiness (mm), and chewiness ( $\text{N}\cdot\text{m}$ ).

### Microbiological analyses

Samples were prepared in a vertical laminar-flow cabinet (model AV 30/70, Telstar, Madrid, Spain). Microbiological analysis of frankfurters was carried out by duplicate as follows: for each sample, 10 g was taken and placed in a sterile plastic bag (Sterilin, Stone, Staffordshire, UK) with 90 ml of peptone water (0.1%). After 1 min in a stomacher blender (Colworth 400, Seward, London, UK), appropriate decimal dilutions were pour plated on the following media: plate count agar (Merck, Germany) for total viable count (TVC) ( $30^\circ\text{C}$  for 72 h); De Man, Rogosa, Sharp Agar (Merck, Germany) for lactic acid bacteria (LAB) ( $30^\circ\text{C}$  for three to five days); and Violet RedBile Glucose Agar (Merck, Germany) for *Enterobacteriaceae* ( $30^\circ\text{C}$  for 24 h). Results are expressed as logarithms of colony-forming units per gram ( $\log \text{cfu/g}$ ).

### ATR–FTIR spectroscopy

**Spectroscopic measurements.** The infrared spectra of each sample were recorded using the Perkin-Elmer SpectrumTM 400 spectrometer (Perkin Elmer Inc., Madrid, Spain) in mid-infrared mode, equipped with an ATR sampling device containing diamond/ZnSe crystal. Twenty-five milligrams of each sample (with no previous sample preparation) was placed on the surface of the ATR crystal, and slightly pressed with a flat-tip plunger. Spectra were scanned in the wave number range of  $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ , at a scan speed of  $0.20\text{ cm/s}$ , and eight accumulations at a resolution of  $4\text{ cm}^{-1}$ . Nine measurements were made per sample. A total of three sum spectra (72 accumulations) were analyzed by each type of frankfurter. A background spectrum was scanned under the same instrumental conditions before each series of measurements.

### Data analysis

Spectra were acquired with Spectrum version 6.3.2 software and spectral data were treated with Grams/AI version 9.1 (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) software.

To eliminate any spectral influence of the water in the frankfurter formulated with pork backfat (NF/PF and LF/PF) in the  $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$  region, the spectral contribution of water was appropriately subtracted from sample spectra using the  $2125\text{ cm}^{-1}$  association band of water as an internal intensity standard (Lavialle et al., 1982; Vincent et al., 1984). In frankfurter formulated with emulsion gels (RF/T, RF/T, and RF/G), to avoid any spectral influence of the water and the other ingredients in each emulsion gel, the corresponding aqueous solution spectrum of these ingredients, except olive oil, was appropriately subtracted accordingly, again the  $2125\text{ cm}^{-1}$  association band of water as an internal intensity standard (Lavialle et al., 1982; Vincent et al., 1984). In addition, to avoid any spectral influence of proteins in this region, the resulting spectra of the frankfurters were then subtracted, using a subtraction factor to eliminate the amide II band so that the intensity maximum near  $1545\text{ cm}^{-1}$  was not visible. The half bandwidths of the  $2923\text{ (v}_{\text{as}}\text{CH}_2)$  and  $2854\text{ (v}_{\text{s}}\text{CH}_2)\text{ cm}^{-1}$  bands were measured in the resulting difference spectra.

### Sensory evaluation

Frankfurters were assessed by a 10-member panel who regularly consume this kind of products. The panel was selected after preliminary training (two sessions) with the products and terminology. Samples (2.5 cm long) from each formulation were heated for 15 s in a



microwave, and then immediately presented to panelists. Judges were instructed to evaluate texture and general acceptability (0 = dislike extremely, 10 = like extremely) on a hedonic scale rating test and to evaluate color and flavor (0 = no characteristic, 10 = characteristic) on a nonstructured descriptive scale with fixed extremes. Each point was later converted to a numerical scale. Sensory analysis was performed five days after the preparation of the frankfurters.

### Statistical analysis

Means and standard deviations of data were obtained for all analysis performed. One-way analyses of variance (ANOVA) were performed to evaluate the statistical significance ( $p < 0.05$ ) of the effect of frankfurter formulation for all analysis. In addition, two-way ANOVA as a function of formulation and storage time were carried out for purge loss, pH values, color parameters, lipid oxidation values, texture parameters, microorganism counts, and ATR-FTIR spectroscopy data. Least squares differences were used for comparison of mean values among formulations and Tukey's HSD (honest significant difference) test to identify significant differences ( $p < 0.05$ ) between formulations and storage time. Statistical Package for the Social Sciences version 13.0 was used (SPSS inc. Chicago, Illinois, USA) for all evaluations.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Proximate analysis and energy content

Proximate analysis of frankfurters showed some significant differences between formulations (Table 2).

Protein content was close to the target level; all samples had similar ( $p > 0.05$ ) protein contents irrespective of reformulation process, except for RF/PF. The proportion of ash was affected ( $p < 0.05$ ) by formulation, although the differences were not quantitatively important, ranging between 3.21% and 3.48%. Moisture and fat contents were close to the target levels. Moisture content was lowest ( $p < 0.05$ ) in NF/PF control samples and high in all RF samples irrespective of formulation (Table 2). In the case of the fat level, the opposite effect was observed. These results are consistent with the experimental design, which stipulated two fat levels—NF 24% and RF 14%—entailing a fat reduction of more than 40%. The lipid content in NF/PF and RF/PF samples came from lean pork meat and pork backfat (all pork fat), whereas in the other samples (RF/T, RF/A, RF/G), pork backfat had been replaced by emulsion gels containing olive oil and chia flour (Table 1). These emulsion gel fat replacers contained around 52 g of olive oil and 1.6 g of chia oil per 100 g. According to the product formulation, then these frankfurters contained around 11% of vegetable oils (10.9% olive oil and 0.3% chia oil), accounting for approximately 80% of product fat content.

Energy contents were 286.6 kcal/100 g in NF/PF samples and between 195.46 and 196.77 kcal/100 g in RF samples (RF/PF and RF/T, RF/A, and RF/G) (Table 2), making for a reduction of energy content of roughly 30% in these reformulated samples.

### Mineral content

Minerals are an important component in meat products for purposes of nutrition and health. In the NF/PF

**Table 2.** Proximate analysis (%), energy content (kcal/100g), and mineral composition (mg/100g product) of frankfurters

Parameters	Samples				
	NF/PF	RF/PF	RF/T	RF/A	RF/G
Moisture	55.49 ± 0.28a	66.830 ± 0.11b	66.97 ± 1.36b	66.05 ± 0.31b	65.71 ± 0.21b
Ash	3.25 ± 0.03a	3.21 ± 0.03a	3.43 ± 0.04b	3.48 ± 0.01b	3.22 ± 0.02a
Protein	16.31 ± 0.50a	15.82 ± 0.07b	16.21 ± 0.04a	16.07 ± 0.04a	16.49 ± 0.47a
Fat	24.15 ± 0.11b	14.47 ± 0.10 a	14.32 ± 0.11a	14.32 ± 0.19a	14.05 ± 0.27a
Energy value	286.60	196.54	196.77	196.20	195.46
Sodium	962.57 ± 66.91a	1033.82 ± 88.93a	1093.16 ± 70.34a	1109.34 ± 29.54a	1090.17 ± 66.40a
Potassium	263.88 ± 16.86a	280.79 ± 5.88a,b	272.05 ± 11.81a,b	292.58 ± 4.94b	287.17 ± 5.95b
Magnesium	15.43 ± 1.07a	15.40 ± 0.23a	18.30 ± 0.32b	19.50 ± 0.26b,c	19.77 ± 0.36c
Calcium	1.48 ± 0.50a	0.91 ± 0.22a	32.31 ± 0.74c	34.74 ± 0.40 d	6.83 ± 0.30b
Iron	0.59 ± 0.07b	0.46 ± 0.01a	0.56 ± 0.02a,b	0.56 ± 0.03a,b	0.64 ± 0.05b
Manganese	0.05 ± 0.01a	0.04 ± 0.00a	0.08 ± 0.00b	0.08 ± 0.00b	0.09 ± 0.02b

Note: NF, normal fat; RF, reduced fat. For frankfurter denominations, see Table 1.

Means ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

control sample, the concentration of the different minerals (Table 2) was normal for products of a similar nature (Ayo et al., 2007). In general, addition of emulsion gels increased the concentrations of Mg, Ca, and Mn. Generally, reformulation had no clear effect on the other minerals analyzed. Na content was around 1.0 g/100 g, close to the normal for this kind of products (Moreiras et al., 2013), irrespective of the formulation process. The source of Mg, Mn, and particularly of Ca, minerals not typically found in meat products, could be the chia flour, which contains high concentrations of minerals, mainly calcium or magnesium (Capitani et al., 2012). These minerals affect to varying extents the potential contribution of these products to achievement of recommended intakes of each one (Table 2).

### Fatty acid composition

Table 3 reports the fatty acid content of different samples. The frankfurters formulated with three types of emulsion gels (RF/T, RF/A, and RF/G) contained similar proportions and types of fat, so that the results were similar; the data reported are therefore the mean values of these samples. Fatty acid content varied with

the formulation, as affected by fat level and the use of emulsion gels (containing olive oil and chia flour) as pork backfat replacers. In all-pork-fat samples (NF/PF and RF/PF), saturated fatty acids and MUFAs together accounted for 94% of the total fatty acids. As a result of fat reduction, the concentration of SFAs fell from 9.43 g/100 g (NF/PF) hasta 5.66 g/100 g in sample RF/PF. Concentrations of MUFAs and PUFAs, respectively likewise dropped, from 11.89 and 1.35 g/100 g in NF/PF and 7.02 and 0.97 g/100 g in RF/PF (Table 3).

Compared with all-pork-fat frankfurters, some differences were found in fatty acid concentrations in samples where pork backfat was replaced by emulsion gels. SFAs and MUFAs dropped to 89% (72% of these MUFAs), and PUFA concentrations fell to 11%. As compared with the control sample (NF/PF), the proportion of the SFA with the greatest atherogenic effect (palmitic and myristic) decreased to 40% and 44%, respectively (Table 3) in RF/PF samples. In samples with similar fat levels (RF/PF vs. RF/T, RF/A, and RF/G), the ones containing olive oil and chia flour contained less ( $p < 0.05$ ) SFAs, and more ( $p < 0.05$ ) MUFAs (9.48 g/100 g) and n-3 PUFAs

**Table 3.** Fatty acid profile (g/100g product) and nutritional significance of frankfurters

	NF/PF	RF/PF	RF/T, RF/A, and RF/G
Myristic C14:0	0.34 ± 0.01b	0.19 ± 0.00a	–
Palmitic C16:0	5.91 ± 0.05c	3.48 ± 0.03b	1.75 ± 0.05a
Stearic C18:0	3.07 ± 0.05c	1.92 ± 0.02b	0.5 ± 0.02a
Other SFAs	0.12 ± 0.00c	0.07 ± 0.00b	0.05 ± 0.02a
Σ SFA	9.43 ± 0.06c	5.66 ± 0.05b	2.30 ± 0.07a
Palmitoleic C16:1	0.62 ± 0.00c	0.37 ± 0.05b	0.18 ± 0.03a
Oleic C18:1n9	10.85 ± 0.05c	6.41 ± 0.05a	9.27 ± 0.21b
Eicosenoic C20:1n9c	0.30 ± 0.00c	0.18 ± 0.00b	0.04 ± 0.00a
Other MUFAs	0.12 ± 0.00b	0.06 ± 0.00a	–
Σ MUFA	11.89 ± 0.06c	7.02 ± 0.05a	9.48 ± 0.19b
Linoleic C18:2n6	1.18 ± 0.01c	0.83 ± 0.01a	0.99 ± 0.03b
Linolenic C18:3n3	0.06 ± 0.00b	0.04 ± 0.01a	0.30 ± 0.01c
Other PUFAs	0.14 ± 0.00a	0.10 ± 0.00a	0.13 ± 0.16a
Σ PUFA	1.35 ± 0.04b	0.97 ± 0.01a	1.41 ± 0.12b
PUFA–SFA	0.14 ± 0.00a	0.17 ± 0.00a	0.62 ± 0.07b
Σ n – 3	0.09 ± 0.03a	0.10 ± 0.00a	1.00 ± 0.01b
Σ n – 6	1.26 ± 0.02c	0.87 ± 0.00b	0.41 ± 0.12a
n – 6/n – 3	14.52 ± 5.02c	9.12 ± 0.02b	2.63 ± 0.59a
Atherogenic index	0.55 ± 0.01b	0.53 ± 0.01b	0.16 ± 0.00a
Trombogenic index	1.36 ± 0.02b	1.32 ± 0.02b	0.35 ± 0.02a

*Note:* NF, normal fat; RF, reduced fat; SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid. For frankfurter denominations, see Table 1.

Means ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

(1.41 g/100 g). Of these, 300 mg was accounted for by linolenic acid (C18:3), the most common fatty acid in chia (Ayerza and Coates, 2011).

For all-pork-fat samples, the PUFA/SFA ratio ranged between 0.14 and 0.17 close to the ratios reported for pork products (López-López et al., 2011). This ratio increased in sample containing olive oil and chia flour (Table 3). Some scientific studies have suggested that a high  $n-6/n-3$  PUFA ratio is associated with pathogenesis of numerous disorders, among them CVDs and cancer, while increasing  $n-3$  PUFA concentrations to reduce the  $n-6/n-3$  PUFA ratio has a suppressive effect (Simopoulos, 2002). For the prevention of CVD, the dietary recommendation is to reduce this ratio to  $<4$ . The ratios found in for all-pork-fat samples in the present experiment (Table 3) diverged to some extent from the recommended values, the highest occurring in samples formulated with pork backfat (NF/PF and RF/PF). On the other hand, the  $n-6/n-3$  ratio in samples prepared with emulsion gels was up to four times lower. This effect would appear to be mainly due to an increase of  $n-3$  PUFAs, with concentrations in these samples around 10 times higher than in all-pork-samples (Table 3). The AI and the TI were greater ( $p < 0.05$ ) in the all-animal-fat samples (NF/PF and RF/PF). These values were higher than reported elsewhere in all-pork-fat (NF and RF) frankfurters (Delgado-Pando et al., 2010; Salcedo-Sandoval et al., 2013) and lower than in RF frankfurters formulated with a healthier oil combination as fat replacer (Salcedo-Sandoval et al., 2013).

### Processing loss and purge loss

Processing loss ranged between 9.19% and 10.62%. The lowest ( $p < 0.05$ ) processing losses were found in NF/PF sample. When compared with RF samples, it was observed that samples formulated with pork backfat (RF/PF) had the highest ( $p < 0.05$ ) processing loss. Nonsignificant differences were found between frankfurters with O/W emulsion gels (RF/T, RF/A, and RF/G). Ranges of processing loss (including samples made with vegetable and marine oils) between 10% and 20% have been reported in frankfurters formulated with improved fat content (López-López et al., 2009b; Paneras and Bloukas, 1994). Similar processing loss results have been reported in frankfurters prepared with O/W emulsions stabilized with proteins (soy protein, caseinate) and MTG (Jiménez-Colmenero et al., 2010).

Purge loss ranged from 0.84% to 2.54%, indicating good stability of the meat matrices (Table 4). RF samples generally registered the highest purge losses; these values remained constant ( $p > 0.05$ ) during storage, except in samples containing gelatin in the emulsion gel (RF/G) (Table 4). In these RF/G frankfurters,

there was a significant (if not quantitatively very important) increase of purge loss during chilled storage (Table 4). Purge loss values were similar to those reported elsewhere (Delgado-Pando et al., 2010; Salcedo-Sandoval et al., 2013) in frankfurters made with an olive oil emulsion and konjac gel containing olive oil as animal fat replacers.

### pH determination

pH values in frankfurters were between 6.38 and 6.44. There were some formulation-dependent differences which although significant were of no real practical importance (Table 4). Generally small pH changes (lower than 0.2 pH units) were observed in frankfurters as the effect of storage. It has been reported that pork backfat replacement by olive oil reduced the pH value of RF frankfurters (López-López et al., 2009a). However, other authors have reported that pH was not affected by pork backfat replacement with vegetable oils (Ambrosiadis et al., 1996) or by an emulsified oil-stabilizing system used as an animal fat replacer in frankfurter reformulation (Delgado-Pando et al., 2010; Salcedo-Sandoval et al., 2013).

### Color measurement

Color parameters—lightness ( $L^*$ ), redness ( $a^*$ ), and yellowness ( $b^*$ )—were significantly affected by formulation and chilled storage (Table 4), possibly due to the differences in color between pork backfat and its replacers (Jiménez-Colmenero et al., 2010).

Lightness ( $L^*$ ) values were lower ( $p < 0.05$ ) in RF samples, but with significant differences depending on fat reduction strategy. Lightness values were similar ( $p > 0.05$ ) in samples prepared with emulsion gels as pork backfat replacer. Previous results indicated significant differences in  $L^*$  values between the olive oil emulsion gels made with chia flour and cold gelling agent (MTG, alginate, and gelatin) used in this experiment (Pintado et al., in press). However, these color differences seem to have been minimal in the frankfurters (Table 4). RF frankfurters reformulated with O/W emulsion gels (RF/T, RF/A, and RF/G) registered higher lightness than those formulated with pork backfat (RF/PF) (Table 4).

In all-pork-backfat samples, fat reduction increased ( $p < 0.05$ ) redness and reduced yellowness (Table 4). On the other hand, the replacement of pork backfat with O/W emulsion gels reduced ( $p < 0.05$ ) redness ( $a^*$ ) and increased yellowness ( $b^*$ ) ( $p < 0.05$ ) (Table 4). This is possibly an effect of the difference in color between the pork backfat and the emulsion gels, which were more yellowish green due to the olive oil (Jiménez-Colmenero et al., 2010).



**Table 4.** Purge loss (%); pH values; color parameters (L\* lightness, a\* redness, and b\* yellowness); and lipid oxidation (TBARS values, expressed as mg MDA/kg sample) of frankfurters during chilled storage

Parameters	Samples	Days				
		0	14	27	36	85
Purge loss	NF/PF	–	0.84 ± 0.28a1	1.57 ± 0.04a2	1.26 ± 0.01a12	1.30 ± 0.33a12
	RF/PF	–	1.83 ± 0.06b1	2.22 ± 0.02a1	2.02 ± 0.25b1	1.98 ± 0.31ab1
	RF/T	–	2.00 ± 0.31b1	2.16 ± 0.35a1	2.50 ± 0.20b1	2.54 ± 0.16b1
	RF/A	–	1.56 ± 0.00ab1	1.73 ± 0.03a1	2.01 ± 0.21b1	2.11 ± 0.33b1
	RF/G	–	1.93 ± 0.17b12	1.66 ± 0.58a1	2.45 ± 0.16b2	2.51 ± 0.07b2
pH	NF/PF	6.44 ± 0.01b1	6.50 ± 0.01c2	6.56 ± 0.03c3	6.46 ± 0.03b12	6.58 ± 0.01d3
	RF/PF	6.44 ± 0.01b12	6.43 ± 0.04b12	6.51 ± 0.02b3	6.44 ± 0.04ab2	6.40 ± 0.02c1
	RF/T	6.40 ± 0.00ab2	6.44 ± 0.01b23	6.50 ± 0.02b4	6.45 ± 0.01b3	6.20 ± 0.02a1
	RF/A	6.44 ± 0.01b12	6.48 ± 0.01c3	6.51 ± 0.02b3	6.48 ± 0.02b23	6.41 ± 0.02c1
	RF/G	6.38 ± 0.00a2	6.38 ± 0.00a2	6.43 ± 0.03a3	6.41 ± 0.01a23	6.33 ± 0.02b1
L*	NF/PF	75.57 ± 0.67c1	75.73 ± 0.34c1	75.72 ± 0.25d1	75.30 ± 0.24d1	75.37 ± 0.72c1
	RF/PF	71.50 ± 0.38a1	71.20 ± 0.29a1	71.42 ± 0.22a1	71.15 ± 0.22a1	71.40 ± 0.17a1
	RF/T	72.85 ± 0.34b2	72.64 ± 0.28b12	72.45 ± 0.37b12	72.30 ± 0.37b1	72.63 ± 0.17b12
	RF/A	73.20 ± 0.31b1	73.06 ± 0.48b1	73.06 ± 0.29c1	72.79 ± 0.29c1	72.86 ± 0.32b1
	RF/G	72.89 ± 0.22b2	72.99 ± 0.28b2	72.41 ± 0.51b1	72.36 ± 0.51b1	72.61 ± 0.18b12
a*	NF/PF	6.89 ± 0.29c1	6.87 ± 0.24c1	7.25 ± 0.25c2	7.28 ± 0.72c2	7.07 ± 0.09c12
	RF/PF	7.84 ± 0.21d1	8.18 ± 0.16d1	8.16 ± 0.20d1	8.08 ± 0.21d1	8.13 ± 0.08d1
	RF/T	5.29 ± 0.23b1	5.69 ± 0.16b2	5.88 ± 0.13b2	5.69 ± 0.33b2	5.75 ± 0.08b2
	RF/A	4.92 ± 0.15a12	4.88 ± 0.56a1	5.26 ± 0.23a2	5.25 ± 0.14a2	5.08 ± 0.47a12
	RF/G	5.01 ± 0.21ab1	5.08 ± 0.25a1	5.53 ± 0.18ab2	5.28 ± 0.36a12	5.26 ± 0.09a12
b*	NF/PF	9.15 ± 0.24b12	9.30 ± 0.35b12	9.00 ± 0.10b1	9.22 ± 0.19b12	9.37 ± 0.13b2
	RF/PF	8.45 ± 0.17a1	8.70 ± 0.11a1	8.57 ± 0.13a1	8.56 ± 0.18a1	8.65 ± 0.19a1
	RF/T	11.15 ± 0.40c1	11.17 ± 0.11c1	11.20 ± 0.28c1	11.42 ± 0.26c1	11.49 ± 0.15c1
	RF/A	12.02 ± 0.32d1	12.17 ± 0.60e12	12.04 ± 0.58d1	11.98 ± 0.21d1	12.44 ± 0.51d2
	RF/G	11.44 ± 0.34c1	11.63 ± 0.18d12	11.48 ± 0.19c12	11.75 ± 0.31cd12	11.82 ± 0.22c2
TBARS	NF/PF	0.16 ± 0.03a2	0.06 ± 0.06a1	0.03 ± 0.01a1	0.07 ± 0.01a1	0.04 ± 0.01a1
	RF/PF	0.19 ± 0.01a2	0.06 ± 0.01a1	0.04 ± 0.01ab1	0.06 ± 0.02a1	0.06 ± 0.01a1
	RF/T	0.17 ± 0.03a2	0.08 ± 0.01a1	0.08 ± 0.03bc1	0.13 ± 0.01b21	0.08 ± 0.01a1
	RF/A	0.19 ± 0.01a2	0.10 ± 0.05a1	0.09 ± 0.07c1	0.10 ± 0.03ab1	0.08 ± 0.01a1
	RF/G	0.20 ± 0.01a2	0.09 ± 0.03a1	0.05 ± 0.01a1	0.07 ± 0.01ab1	0.07 ± 0.01a1

*Note:* TBARS, thiobarbituric acid-reactive substance; NF, normal fat; RF, reduced fat. For frankfurter denominations, see Table 1. Means ± standard deviation. Different letters in the same column and different number in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

These color results are consistent with reports to the effect that yellowness of cooked sausages was increased and redness reduced by when pork backfat was replaced by olive oil bulking agents based on polysaccharides such as alginate (Ruiz-Capillas et al., 2013) or by an O/W emulsion stabilized with proteins or by vegetable oils added directly (Jiménez-Colmenero et al., 2010; López-López et al., 2009a).

Although there were significant variations in some color parameters, chilled storage generally had little effect on them (Table 4). Other authors have reported

similar findings (Bloukas and Paneras, 1993; Salcedo-Sandoval et al., 2013).

### Lipid oxidation

The rate and extent of lipid oxidation in samples were reduced irrespective of formulation and storage, with TBARS values ranging approximately between 0.06 and 0.2 mg MDA/kg product (Table 4), which is well below the level of incipient rancidity ( $\geq 1.0$ ) (Ockerman, 1976). The presence of chia and olive oil could be one of

**Table 5.** Texture profile analysis (TPA) parameters of frankfurters during chilled storage

		Days				
Samples		0	14	27	36	85
Hardness (N)	NF/PF	27.43 ± 1.94c1	32.50 ± 1.05c2	30.85 ± 1.29d2	27.62 ± 0.62c1	30.69 ± 0.88d2
	RF/PF	19.00 ± 1.93a1	22.12 ± 0.92a2	20.55 ± 0.45a12	20.04 ± 0.61a12	21.88 ± 0.74a2
	RF/T	24.07 ± 0.72b1	25.46 ± 0.85b123	26.19 ± 1.08b23	24.69 ± 0.72b12	27.00 ± 1.67b3
	RF/A	25.73 ± 1.78bc1	26.23 ± 1.42b1	28.61 ± 1.94c2	25.69 ± 1.62bc1	29.34 ± 2.05c2
	RF/G	25.35 ± 1.30bc1	25.92 ± 1.04b1	28.83 ± 1.58cd2	25.19 ± 0.94b1	27.06 ± 0.83b12
Cohesiveness	NF/PF	0.66 ± 0.00a1	0.64 ± 0.01a1	0.66 ± 0.00a1	0.68 ± 0.01a2	0.68 ± 0.01a2
	RF/PF	0.67 ± 0.01a12	0.66 ± 0.01b1	0.69 ± 0.01b23	0.70 ± 0.01b3	0.70 ± 0.00a3
	RF/T	0.73 ± 0.01b1	0.73 ± 0.00c1	0.74 ± 0.01cd1	0.74 ± 0.01c1	0.75 ± 0.00c1
	RF/A	0.71 ± 0.01b1	0.71 ± 0.00c1	0.72 ± 0.00c1	0.73 ± 0.01c12	0.74 ± 0.00c2
	RF/G	0.71 ± 0.00b1	0.72 ± 0.00c1	0.75 ± 0.05d2	0.74 ± 0.01c2	0.74 ± 0.00c2
Springiness (mm)	NF/PF	6.27 ± 0.13a1	6.32 ± 0.10a1	6.29 ± 0.07a1	6.36 ± 0.15a1	6.37 ± 0.09a1
	RF/PF	6.60 ± 0.13b1	6.59 ± 0.06b1	6.66 ± 0.14b12	6.73 ± 0.10b12	6.79 ± 0.10b2
	RF/T	7.12 ± 0.17c1	7.15 ± 0.12c1	7.23 ± 0.03c1	7.20 ± 0.09c1	7.27 ± 0.11c1
	RF/A	7.13 ± 0.05c1	7.12 ± 0.08c1	7.16 ± 0.08c1	7.22 ± 0.06c1	7.18 ± 0.10c1
	RF/G	7.13 ± 0.13c1	7.16 ± 0.05c1	7.22 ± 0.09c1	7.26 ± 0.22c1	7.28 ± 0.05c1
Chewiness (N × mm)	NF/PF	113.03 ± 8.23b1	131.28 ± 4.34b23	127.33 ± 6.19b23	119.56 ± 4.60b12	132.24 ± 5.68b3
	RF/PF	84.09 ± 7.62a1	96.70 ± 4.26a2	94.91 ± 1.90a12	94.93 ± 3.42a12	104.15 ± 4.50a2
	RF/T	124.92 ± 5.38bc1	132.74 ± 6.10b12	139.40 ± 5.64bc23	132.02 ± 4.76c12	146.57 ± 10.25c3
	RF/A	130.02 ± 7.89c1	132.67 ± 5.88b1	146.95 ± 9.09cd23	135.38 ± 7.84c12	155.50 ± 10.87c3
	RF/G	128.93 ± 5.59c1	133.22 ± 5.10b1	156.00 ± 20.26d3	134.43 ± 5.83c12	145.37 ± 4.61c23

Note: NF, normal fat; RF, reduced fat. For frankfurter denominations, see Table 1.

Means ± standard deviation. Different letters in the same column and different number in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

the causes of these lower TBARS values since they are known to have an antioxidant effect due to their tocopherol contents (Ixtaina et al., 2011; López-Miranda et al., 2006; Reyes-Caudillo et al., 2008).

## TPA

TPA showed that both the reduction of lipid content in the formulation of frankfurters and the replacement of animal fat by oil emulsion gels affected their textural properties (Table 5). The lowest ( $p < 0.05$ ) hardness values were recorded in RF frankfurter formulated with pork backfat (RF/PF) (Table 5). It is known that when fat content is reduced by increasing the proportion of water while keeping the amount of protein essentially constant, the structure of RF systems becomes softer (Jiménez-Colmenero et al., 1996). RF frankfurters reformulated with O/W emulsion gels (RF/T, RF/A, and RF/G) registered higher hardness, cohesiveness, springiness, and chewiness than RF samples formulated with pork backfat (RF/PF) (Table 5). Given that the protein–moisture ratio and lipid content

were similar in all RF frankfurters (Table 2), the difference in textural behavior (Table 5) would appear to be due to the presence of the O/W emulsion gels. Previous research has shown that reformulation of cooked meat products with animal fat replacers such as O/W emulsions stabilized with nonmeat proteins and MTG (Jiménez-Colmenero et al., 2010) or an oil bulking agent based on polysaccharides such as alginate (Ruiz-Capillas et al., 2013) or polysaccharide gels based on konjac glucomannan with or without oil (Lin and Huang, 2003; Salcedo-Sandoval et al., 2013) originated a product that was harder and chewier than a meat product control formulated with pork backfat. RF/T, RF/A, and RF/G samples showed similar textural behavior in terms of hardness, cohesiveness, springiness, and chewiness (Table 5). Additionally, it was found that the samples containing alginate or gelatine in the chia emulsion gel (RF/A and RF/G) registered similar ( $p > 0.05$ ) hardness to and even greater ( $p < 0.05$ ) chewiness than NF/RF frankfurter. Previous data showed that an oil emulsion gel formulated with chia and alginate or gelatin was characterized by high gel strength (Pintado et al., in press).

This suggests that the higher gel strength observed in these O/W emulsion gels containing alginate or gelatin influenced the textural behavior of the frankfurters to which they were added.

There was no clear trend associated with chilling storage and formulation (type of sample), but in general as storage progressed hardness, cohesiveness and chewiness increased ( $p < 0.05$ ) in all samples. It is worth noting in this connection that previous experiments with O/W emulsion gels to the ones used in the present work registered an increase in gel strength during chilled storage (Pintado et al., in press). In addition, other authors have reported similar textural behavior during chilled storage of frankfurters reformulated with vegetable and/or marine oils stabilized in an emulsion or in a konjac matrix gel as fat replacers (Salcedo-Sandoval et al., 2013).

## Microbiology

Microbial counts are shown in Table 6. Initial levels of all the microorganisms studied were very low ( $< 3 \log \text{cfu/g}$ ). In the case of *Enterobacteriaceae*, there were no significant differences between the samples, all registering levels below  $1 \log \text{cfu/g}$ . However, there was a significant formulation-dependent difference in the TVC and LAB. The control NF/PF and the samples reformulated with alginate (RF/A) registered the highest

significant levels ( $> 2 \log \text{cfu/g}$ ) of these microorganisms. The effect of reformulation was also observed during chilled storage. At 27 days of storage, the levels of microorganisms (TVC and LAB) were higher ( $p < 0.05$ ) in the reformulated samples. Even in the case of *Enterobacteriaceae* samples, RF/PF and RF/T registered higher levels. All the RF samples showed higher ( $p < 0.05$ ) levels of *Enterobacteriaceae* than the NF sample at the end of storage. Fat reduction has been associated with high moisture content, which provides more propitious environment for bacterial growth (Andres et al., 2006; Ruiz-Capillas et al., 2007). Other authors have also reported significant changes in microbiological populations as a consequence of reformulation (Delgado-Pando et al., 2012; López-López et al., 2009b).

At the end of storage, the highest levels ( $7.63 \log \text{cfu/g}$ ) of TVC and LAB ( $7.35 \log \text{cfu/g}$ ) were recorded in RF sample with pork backfat (RF/PF) and the lowest in the sample RF/G,  $6.92$  and  $6.22 \log \text{cfu/g}$  of TVC and LAB, respectively. Levels were similar ( $p > 0.05$ ) to the sample with NF/PF. These results are very important in that they show that the samples reformulated with MTG, alginate, or gelatin, particularly the latter, contained lower levels of microorganisms than their control (with the same fat level—RF/PF). At 85 days of storage, in some cases, microorganism levels were around  $6 \log \text{cfu/g}$ , which should not pose any kind of risk to consumer health.

**Table 6.** Microorganism counts ( $\log \text{cfu/g}$ ) of frankfurters during chilled storage

Microorganism	Samples	Days		
		0	27	85
Total viable count (TVC)	NF/PF	$2.28 \pm 0.03\text{b1}$	$2.70 \pm 0.00\text{a2}$	$6.85 \pm 0.08\text{a3}$
	RF/PF	$1.70 \pm 0.00\text{a1}$	$3.65 \pm 0.07\text{d2}$	$7.63 \pm 0.01\text{c3}$
	RF/T	$1.74 \pm 0.06\text{a1}$	$4.09 \pm 0.12\text{e2}$	$7.27 \pm 0.03\text{b3}$
	RF/A	$2.54 \pm 0.09\text{c1}$	$3.02 \pm 0.03\text{b2}$	$7.34 \pm 0.03\text{b3}$
	RF/G	$1.70 \pm 0.00\text{a1}$	$3.24 \pm 0.09\text{c2}$	$6.92 \pm 0.04\text{a3}$
Lactic acid bacteria (LAB)	NF/PF	$1.95 \pm 0.07\text{b1}$	$2.48 \pm 0.00\text{a2}$	$6.19 \pm 0.02\text{a3}$
	RF/PF	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$3.19 \pm 0.16\text{b2}$	$7.35 \pm 0.03\text{c3}$
	RF/T	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$3.60 \pm 0.00\text{c2}$	$6.61 \pm 0.13\text{b3}$
	RF/A	$1.92 \pm 0.11\text{b1}$	$3.00 \pm 0.00\text{b2}$	$7.21 \pm 0.02\text{c3}$
	RF/G	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$3.07 \pm 0.10\text{b2}$	$6.22 \pm 0.02\text{a3}$
<i>Enterobacteriaceae</i>	NF/PF	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$3.12 \pm 0.07\text{a2}$
	RF/PF	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$2.02 \pm 0.03\text{b2}$	$4.99 \pm 0.09\text{d3}$
	RF/T	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$2.13 \pm 0.25\text{b2}$	$4.19 \pm 0.02\text{c3}$
	RF/A	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$4.19 \pm 0.02\text{c2}$
	RF/G	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$1.00 \pm 0.00\text{a1}$	$3.80 \pm 0.14\text{b2}$

Note: NF, normal fat; RF, reduced fat. For frankfurter denominations, see Table 1.

Means  $\pm$  standard deviation. Different letters in the same column and different number in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

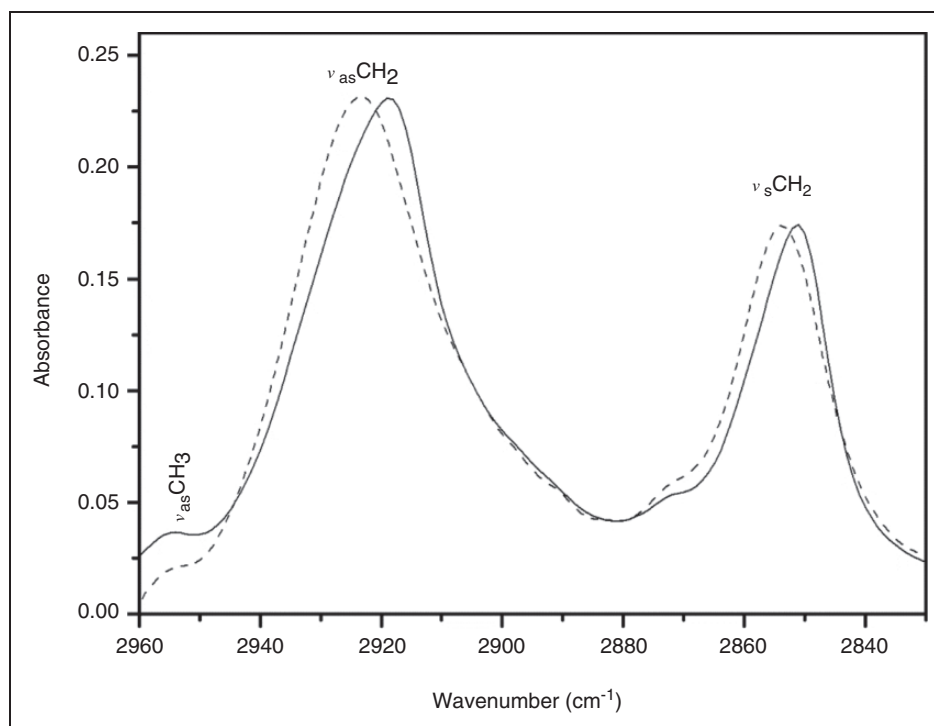
### ATR–FTIR spectroscopy

Figure 1 shows a representative ATR–FTIR spectrum in the 2960–2830  $\text{cm}^{-1}$  region of low fat frankfurter formulated with pork backfat (RF/PF) and low fat frankfurter formulated with emulsion gel, in particular the ones containing MTG (RF/T). This infrared region is dominated by two strong bands resulting, respectively, from the asymmetric ( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ ) and the symmetric ( $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$ ) stretching vibrations of the acyl  $\text{CH}_2$  groups, which was analyzed to examine the lipid structure (Guillen and Cabo, 1997). In general, results showed that replacement of animal fat by chia emulsion gels produces a frequency upshift from 2918  $\text{cm}^{-1}$  to 2923  $\text{cm}^{-1}$  and from 2851  $\text{cm}^{-1}$  to 2853  $\text{cm}^{-1}$  (Figure 1). The results also showed broadening ( $p < 0.05$ ) of the 2918  $\text{cm}^{-1}$  and 2851  $\text{cm}^{-1}$  bands in going from pork backfat-formulated frankfurter (NF/PF  $24.5 \pm 0.5^{\text{c}}$ ; RF/PF  $24.9 \pm 0.5^{\text{c}}$ ) to frankfurter formulated with emulsion gels (RF/G  $26.0 \pm 0.4^{\text{b}}$ ; RF/A  $26.4 \pm 0.3^{\text{b}}$ ; RF/T  $28.3 \pm 0.3^{\text{a}}$ ) [different letters a, b, c indicate significant differences ( $p < 0.05$ )]. One possible explanation for this would be a diminishing of the conformational order of lipid acyl chains and an increase of their dynamics (Fraile et al., 1999; Herrero

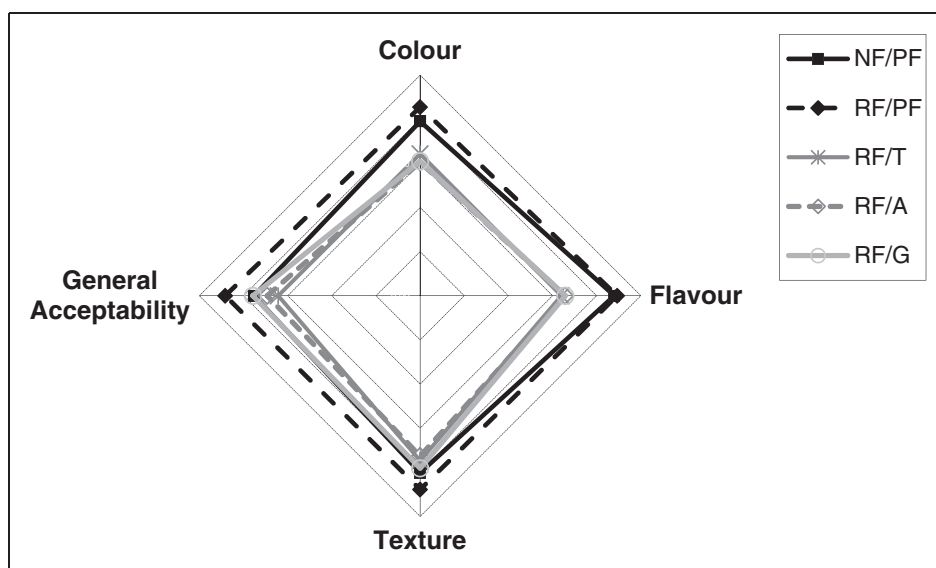
et al., 2011). We can therefore assume that inter- and intramolecular lipid disorder was greater in samples containing chia emulsion gels as animal fat replacers, the disorder being more pronounced in frankfurter formulated with emulsion gels containing MTG. This would involve more lipid–protein interactions in these products (Carmona et al., 2011). Previous studies on meat products in which olive oil bulking agents with alginate were used as animal fat replacers showed increased disorder in the oil acyl chains, which involve lipid–protein interactions (Herrero et al., 2014; Ruiz-Capillas et al., 2013).

Chilled storage for up to 85 days produced no changes ( $p > 0.05$ ) in frequency and half-bandwidth values of the  $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$  and  $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$  bands (data not shown), indicating no modification in acyl lipid chain order or lipid–protein interaction in any of the frankfurters during storage. Similar behavior was observed in a previous experiment on meat products formulated with an olive oil bulking agent containing alginate (Herrero et al., 2014; Ruiz-Capillas et al., 2013).

There is no clear relationship between structural characteristics of the lipids in frankfurters formulated with emulsion gels and the technological properties



**Figure 1.** ATR–FTIR spectra (2960–2830  $\text{cm}^{-1}$ ) of reduced-fat frankfurter formulated with pork backfat (RF/PF) (solid line) and low-fat frankfurter formulated with an emulsion gel containing chia, olive oil, water, and transglutaminase as fat replacer (RF/T) (dashed line).



**Figure 2.** Sensory evaluation of frankfurters. For frankfurter denominations, see Table 1.

studied. However, the lipid chain disorder or increased lipid–protein interactions observed in these samples could account for their small processing loss and their textural behavior (higher hardness, cohesiveness, springiness, and chewiness).

### Sensory analysis

Sensory panel scores for frankfurters were affected by product formulation (Figure 2). In all-pork-fat frankfurters, fat reduction had no effect ( $p > 0.05$ ) on any of the sensory parameters evaluated. However, some differences were observed when emulsion gels were used as animal fat replacers in RF frankfurters. All frankfurters reformulated with emulsion gels (RF/T, RF/A, and RF/G) showed significant differences in color when compared with RF frankfurters formulated with pork backfat (RF/PF). Color scores in NF/PF samples formulated with pork backfat and reformulated samples formulated with an emulsion gel containing MTG (RF/T) (Figure 2) were similar ( $p > 0.05$ ). Frankfurters made with pork backfat scored higher ( $p < 0.05$ ) for flavor than the ones formulated with emulsion gels, while the panellist found no significant differences in texture of any of the samples. Reformulated RF samples made with O/W emulsion gels scored the same for general acceptability ( $p > 0.05$ ) as NF samples formulated with pork backfat (Figure 2). The RF frankfurters formulated with pork backfat scored the highest, but similar ( $p < 0.05$ ) to NF/PF and RF sample prepared with alginate (RF/A) and gelatin (RF/G). There were no significant differences in color, flavor, texture, and general acceptability scores as a function of the O/W emulsion gel used as animal fat replacer (Figure 2).

In general, the panellists considered that all products were satisfactory, awarding them all relatively high scores for general acceptability (Figure 2). These findings are consistent with the reports by some authors who found no significant differences in overall acceptability when pork backfat was replaced by olive–O/W in frankfurters (Jiménez-Colmenero et al., 2010). In contrast, other authors have reported that RF frankfurters in which pork backfat was replaced with olive oil had lower overall palatability or acceptability than high-fat frankfurters made with pork backfat (Bloukas and Paneras, 1993; Pappa et al., 2000).

### CONCLUSIONS

The replacement of animal fat by emulsion containing gels chia and olive oil stabilized with cold gelling agents (transglutaminase, alginate, or gelatin) opens up new possibilities for incorporation of nutritional and healthy components in frequently consumed meat products such as frankfurters. When emulsion gels were used as fat replacers, the fat level was reduced to 40%, thus achieving a reduction of approximately 30% in energy input. These sausages could therefore be labeled with a “reduced fat content” claim (Reglament 2006). The incorporation of these chia emulsion gels significantly improved fat content of frankfurters in line with nutritional recommendations in terms of low level of SFAs and high levels of MUFAs and  $n - 3$  PUFAs. According to Reglament (2006), these frankfurters could be labeled as a source of omega-3 fatty acids in addition to health claims under Reglament (2012). Also, frankfurters reformulated with chia emulsion gels as fat replacers contain considerable amounts of some minerals such



as Mg, Mn, and Ca. Reformulation of frankfurters with chia emulsion gels involve more lipid–protein interactions. Although this reformulation strategy entailed changes in the characteristics of the products, they were found to have acceptable technological properties and sensory attributes.

Frankfurters with emulsion gels showed good stability to oxidation during storage and contained lower levels of microorganism than their sample RF counterpart. Generally, chilled storage had little effect on quality properties of frankfurters reformulated with chia emulsion gels. Additionally, chilled storage not produced modifications in lipid–protein interaction in any of the frankfurters during storage.

## DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS

The authors declare that there is no conflict of interest.

## FUNDING

This research was supported by projects AGL2010-19515 and AGL2011-29644-C02-01.

## REFERENCES

- Ambrosiadis J, Vareltzis KP and Georgakis SA. (1996). Physical, chemical and sensory characteristics of cooked meat emulsion style products containing vegetable oils. *International Journal of Food Science and Technology* 31(2): 189–194.
- Andres SC, Garcia ME, Zaritzky NE and Califano AN. (2006). Storage stability of low-fat chicken sausages. *Journal of Food Engineering* 72(4): 311–319.
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed.). Rockville, MD, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- Ayerza R and Coates W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products* 34(2): 1366–1371.
- Ayo J, Carballo J, Serrano A, Olmedilla-Alonso B, Ruiz-Capillas C and Jiménez-Colmenero F. (2007). Effect of total replacement of pork backfat with walnut on the nutritional profile of frankfurters. *Meat Science* 77(2): 173–181.
- Bligh EG and Dyer WJ. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37(8): 911–917.
- Bloukas JG and Paneras ED. (1993). Substituting olive oil for pork backfat affects quality of low-fat frankfurters. *Journal of Food Science* 58(4): 705–709.
- Bourne MC. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology* 32(7): 62–65.
- Capitani MI, Spotorno V, Nolasco SM and Tomás MC. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT—Food Science and Technology* 45(1): 94–102.
- Carmona P, Ruiz-Capillas C, Jiménez-Colmenero F, Pintado T and Herrero AM. (2011). Infrared study of structural characteristics of frankfurters formulated with olive oil-in-water emulsions stabilized with casein as pork backfat replacer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(24): 12998–13003.
- Coorey R, Tjoe A and Jayasena V. (2014). Gelling properties of chia seed and flour. *Journal of Food Science* 79(5): E859–E866.
- Delgado-Pando G, Cofrades S, Ruiz-Capillas C and Jiménez-Colmenero F. (2010). Healthier lipid combination as functional ingredient influencing sensory and technological properties of low-fat frankfurters. *European Journal of Lipid Science and Technology* 112(8): 859–870.
- Delgado-Pando G, Cofrades S, Ruiz-Capillas C, Triki M and Jiménez-Colmenero F. (2012). Enriched n–3 PUFA/konjac gel low-fat pork liver pâté: Lipid oxidation, microbiological properties and biogenic amine formation during chilling storage. *Meat Science* 92(4): 762–767.
- Dickinson E. (2013). Stabilising emulsion-based colloidal structures with mixed food ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93(4): 710–721.
- Fraile MV, Patrón-Gallardo B, López-Rodríguez G and Carmona P. (1999). FT-IR study of multilamellar lipid dispersions containing cholesteryl linoleate and dipalmitoylphosphatidylcholine. *Chemistry and Physics of Lipids* 97(2): 119–128.
- Guillen MD and Cabo N. (1997). Characterization of edible oils and lard by Fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. *Journal of the American Oil Chemists Society* 74(10): 1281–1286.
- Herrero AM, Carmona P, Jiménez-Colmenero F and Ruiz-Capillas C. (2014). Polysaccharide gels as oil bulking agents: Technological and structural properties. *Food Hydrocolloids* 36: 374–381.
- Herrero AM, Carmona P, Pintado T, Jiménez-Colmenero F and Ruiz-Capillas C. (2011). Olive oil-in-water emulsions stabilized with caseinate: Elucidation of protein–lipid interactions by infrared spectroscopy. *Food Hydrocolloids* 25(1): 12–18.
- Ixtaina VY, Martínez ML, Spotorno V, Mateo CM, Maestri DM, Diehl BWK, et al. (2011). Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis* 24(2): 166–174.
- Jiménez-Colmenero F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science and Technology* 18(11): 567–578.
- Jiménez-Colmenero F, Barreto G, Fernandez P and Carballo J. (1996). Frozen storage of bologna sausages as a function of fat content and of levels of added starch and egg white. *Meat Science* 42(3): 325–332.
- Jiménez-Colmenero F, Herrero AM, Pintado T, Solas MT and Ruiz-Capillas C. (2010). Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. *Food Research International* 43(8): 2068–2076.

- Lavialle F, Adams RG and Levin IW. (1982). Infrared spectroscopic study of the secondary structure of melittin in water, 2-chloroethanol, and phospholipid bilayer dispersions. *Biochemistry* 21(10): 2305–2312.
- Lin KW and Huang HY. (2003). Konjac/gellan gum mixed gels improve the quality of reduced-fat frankfurters. *Meat Science* 65(2): 749–755.
- López-López I, Cofrades S, Cañeque V, Díaz MT, López O and Jiménez-Colmenero F. (2011). Effect of cooking on the chemical composition of low-salt, low-fat Wakame/olive oil added beef patties with special reference to fatty acid content. *Meat Science* 89(1): 27–34.
- López-López I, Cofrades S and Jiménez-Colmenero F. (2009b). Low-fat frankfurters enriched with n-3 PUFA and edible seaweed: Effects of olive oil and chilled storage on physicochemical, sensory and microbial characteristics. *Meat Science* 83(1): 148–154.
- López-López I, Cofrades S, Ruiz-Capillas C and Jiménez-Colmenero F. (2009a). Design and nutritional properties of potential functional frankfurters based on lipid formulation, added seaweed and low salt content. *Meat Science* 83(2): 255–262.
- López-Miranda J, Badimon L, Bonanome A, Lairon D, Kris-Etherton PM, Mata P, et al. (2006). Monounsaturated fat and cardiovascular risk. *Nutrition Reviews* 64(2): S2–S12.
- Moreiras O, Carbajal A, Cabrera C and Cuadrado C. (2013). *Tablas de composición de alimentos*. (16th ed.). Madrid, Spain: Ediciones Pirámide (Grupo Anaya, SA).
- Ockerman HW. (1976). *Quality Control of Post Mortem Muscle and Tissue*. Columbus, OH, USA: Department of Animal Science, Ohio State University.
- Olivos-Lugo BL, Valdivia-López MÁ and Tecante A. (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Food Science and Technology International* 16(1): 89–96.
- Paneras ED and Bloukas JG. (1994). Vegetable-oils replace pork backfat for low-fat frankfurters. *Journal of Food Science* 59(4): 725–728.
- Pappa IC, Bloukas JG and Arvanitoyannis IS. (2000). Optimization of salt, olive oil and pectin level for low-fat frankfurters produced by replacing pork backfat with olive oil. *Meat Science* 56(1): 81–88.
- Pintado T, Ruiz-Capillas C, Jiménez-Colmenero F, Carmona P and Herrero AM. (in press). Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica* L.) and cold gelling agents: Technological and infrared spectroscopic characterization. *Food Chemistry*.
- Reglament EU. (2006). Reglament 1924/2006 of the European parliament and of the council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Official Journal of the European Union*, L 404, 9–25.
- Reglament EU. (2012). Reglament EU 432/2012. Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. *Official Journal of the European Union*, L136, 1–40.
- Reyes-Caudillo E, Tecante A and Valdivia-López MA. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry* 107(2): 656–663.
- Ruiz-Capillas C, Carballo J and Jiménez Colmenero F. (2007). Biogenic amines in pressurized vacuum-packaged cooked sliced ham under different chilled storage conditions. *Meat Science* 75(3): 397–405.
- Ruiz-Capillas C, Carmona P, Jiménez-Colmenero F and Herrero AM. (2013). Oil bulking agents based on polysaccharide gels in meat batters: A Raman spectroscopic study. *Food Chemistry* 14(4): 3688–3694.
- Salcedo-Sandoval L, Cofrades S, Ruiz-Capillas C, Solas MT and Jiménez-Colmenero F. (2013). Healthier oils stabilized in Konjac matrix as fat replacers in n-3 PUFA enriched frankfurters. *Meat Science* 93(3): 757–766.
- Serrano A, Cofrades S and Jiménez-Colmenero F. (2006). Characteristics of restructured beef steak with different proportions of walnut during frozen storage. *Meat Science* 72(1): 108–115.
- Simopoulos AP. (2002). The importance of the ratio of omega-6. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 56(8): 365–379.
- Ulbricht TLV and Southgate DAT. (1991). Coronary heart-disease—7 dietary factors. *Lancet* 338(8773): 985–992.
- Vincent JS, Steer CJ and Levin IW. (1984). Infrared spectroscopic study of the pH dependent secondary structure of brain clathrin. *Biochemistry* 23(4): 625–631.
- Zetzel AK, Marangoni AG and Barbut S. (2012). Mechanical properties of ethylcellulose oleogels and their potential for saturated fat reduction in frankfurters. *Food and Function* 3(3): 327–337.

**4.5 Strategies for incorporation of chia (*Salvia hispanica* L.) in frankfurters as health-promoting ingredient**

***Meat Science, 2016, 114, 75-84***







# Strategies for incorporation of chia (*Salvia hispanica* L.) in frankfurters as a health-promoting ingredient



T. Pintado, A.M. Herrero, F. Jiménez-Colmenero, C. Ruiz-Capillas \*

Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC), José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 10 August 2015

Received in revised form 14 December 2015

Accepted 16 December 2015

Available online 19 December 2015

### Keywords:

Chia

Olive oil emulsion gel

Frankfurter

Nutritional composition

Fatty acid profile

Technological properties

## ABSTRACT

Different strategies were examined for incorporation of chia flour (10%) and olive oil to improve the fat content in frankfurters. Nutritional composition, technological properties, sensory and microbiological analyses were studied as affected by the strategy used and by chilling storage. Chia increased total dietary fibre (98% insoluble dietary fibre) and minerals (K, Mg, Ca, Mn) irrespective of the incorporation strategy. Fat and energy content reduction (>26%) were achieved in all frankfurters reformulated with chia and olive oil. Chia addition increased linolenic acid and reduced processing and purge in all samples. Lightness and redness of frankfurters were affected by the presence of chia, but there was no clear evidence of influence by the mode of addition. Frankfurter texture was influenced by the strategy used to incorporate chia and olive oil and by chilling storage. Samples were judged acceptable and contained low microorganism levels. Frankfurters containing chia were suitable for labelling with certain nutrition and health claims.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Recent years have seen increasing pursuit of healthier lifestyles, among them dietary habits. In response to this, there has been a great deal of interest worldwide in the use of active ingredients and bioactivities of compounds originally present in plants to provide health benefits in foods. In this context, *Salvia hispanica* L., commonly known as chia, offers considerable potential for the development of healthier foods. Chia is an oilseed plant that is a natural source of omega-3 fatty acids (mainly  $\alpha$ -linolenic acid), fibres and proteins of high biological value, in addition to other important nutritional components such as vitamins and minerals. It is also a promising natural source of antioxidants due to the presence of polyphenols (Mohd Ali et al., 2012; Muñoz, Cobos, Diaz, & Aguilera, 2013; Reyes-Caudillo, Tecante, & Valdivia-López, 2008). It can also be considered a functional food in that apart from contributing to human nutrition, chia helps to increase the satiety index and prevent cardiovascular diseases, diabetes and other disorders (Mohd Ali et al., 2012; Muñoz et al., 2013). Chia is used for different purposes in different countries, such as Mexico, Argentina, Chile, New Zealand, Japan, the United States, Canada, and Australia. The 2000 US Dietary Guidelines recommend that chia can be used as a primary food in amounts not exceeding 48 g/day. In 2009, it was approved as a Novel Food by the European Parliament and Council of Europe (Bresson et al., 2009). Human dietary chia is mainly consumed raw in salads, as sprouts or seeds, and added to beverages (Jin et al., 2010; Mohd Ali et al., 2012).

Other important applications of chia include use as animal feed supplement to increase  $\alpha$ -linolenic acid in muscle tissue (Mohd Ali et al., 2012).

Recently it has come to be used as an ingredient in some foods such as cookies, bread, snacks and cake (Coelho & Salas-Mellado, 2015; Iglesias-Puig & Haros, 2013; Inglett, Chen, & Liu, 2014; Pizarro, Almeida, Sammán, & Chang, 2013; Steffolani, Martinez, León, & Gómez, 2015). Adding chia to a food product not only improves nutritional and healthy properties of a product and its components but can also confer technological properties like high water-holding capacity, water absorption capacity, emulsifying activity or gelling capacity (Coorey, Tjoe, & Jayasena, 2014; Olivios-Lugo, Valdivia-López, & Tecante, 2010). The use of chia as an ingredient in the processing of widely consumed foods such as meat products which have associated with negative health implication, offers a promising approach. However, as far as the authors are aware, there has been very little research in that direction. Souza et al. (2015) reported that the direct addition of partially defatted chia flour to hamburgers is an alternative to increase  $\alpha$ -linolenic contents and achieve a nutritionally balanced food. Similar findings have been reported in frankfurters formulated with ground chia seed (Marín-Flores, Acevedo-Mascarúa, Cavada-Martínez, García-Romero, & Tamez-Ramírez, 2008). Also, a previous study in frankfurters formulated with olive oil emulsion gels containing chia flour (1%) reported significant improvements in fat content (lower saturated fatty acid, higher mono- and polyunsaturated fatty acid contents) and fat and water-binding properties (Pintado et al., 2015b).

It is known that the level and the conditions of addition of ingredients to gel/emulsion meat systems can affect not only the composition but also the technological and organoleptic properties of these systems

\* Corresponding author.

E-mail address: [claudia@ictan.csic.es](mailto:claudia@ictan.csic.es) (C. Ruiz-Capillas).

and so affect their suitability for use in meat product reformulation processes. This is especially interesting in the case of chia flour, particularly when added in large enough amounts to contribute substantially to the intakes of certain healthy bioactive compounds. Moreover, it confers useful technological characteristics, including stabilization and structuring of oils (e.g. olive oil), with additional advantages in healthier lipid meat product formulation (Pintado et al., 2015b).

There are no studies dealing with the approach to addition of levels of chia flour high enough to produce nutritional and health benefits in gel/emulsion meat products, and therefore the aim of the present work was to evaluate the effect of different strategies for use of chia flour as an animal fat replacer, in terms of their influence on nutritional composition, technological properties and sensory characteristics of reduced-fat frankfurters over storage (65 days at 2 °C). Three different procedures were considered for incorporation of chia flour (10%) in a meat matrix: addition as such or as a component of an oil-in-water emulsion (CE) or an oil-in-water emulsion gel (CEGA). Olive oil was selected as the basis for the fat replacement system since it also helps to improve the fat content of healthier lipid products (Delgado-Pando, Cofrades, Ruiz-Capillas, & Jiménez-Colmenero, 2010; Pintado et al., 2015b).

## 2. Material and methods

### 2.1. Preparation of chia emulsions as animal fat replacers

Two different chia (C) oil-in-water emulsions were formulated for use as animal fat replacers: 1) chia oil-in-water emulsion (CE) with olive oil (Carbonell Virgen Extra, SOS Cuétara S.A., Madrid Spain), water and chia flour (*S. hispanica* L.) (Primaria Premium Raw Materials, S. L. Valencia, Spain), and 2) chia oil-in-water emulsion gel (CEGA) with olive oil, water, chia flour, a cold gelling agent based on alginate (2%) [sodium alginate (0.73%) (Tradissimo, TRADES S.A., Barcelona, Spain), CaSO<sub>4</sub> (0.73%) and pyrophosphate (0.54%) (Panreac Química, S.A. Madrid, Spain)]. The possibilities offered by alginate as gelling agent in the preparation of this system have been reported by Pintado, Ruiz-Capillas, Jiménez-Colmenero, Carmona, and Herrero (2015a).

These emulsions CE and CEGA were prepared (in duplicate) according to previous works (Jiménez-Colmenero, Herrero, Pintado, Solas, & Ruiz-Capillas, 2010; Pintado et al., 2015a) and were replicated twice on two different days. CE was prepared by mixing chia flour (25.84%) with water (57.36%) (45 s, approx. 5600 rpm) using a homogenizer (Thermomix™ 31, VorwerkEspaña M.S.L., S.C, Madrid, Spain). The final mixture was mixed again (3 min, approx. 5600 rpm) while gradually adding olive oil (16.8%). CEGA was prepared by mixing chia flour (25.84%) with water (55.36%) (45 s, approx. 5600 rpm) and then gelling agent based on 2% alginate (0.73% sodium alginate, 0.73% CaSO<sub>4</sub> and 0.54% pyrophosphate) was added and mixed (15 s, approx. 5600 rpm). The final mixture was mixed again for 3 min at approx. 5600 rpm with the gradual addition of olive oil (16.8%) to the mixture. Finally, each type of emulsion was placed in a metal container under pressure to compact it and prevent air bubbles from forming, and then stored in a chilled room at 2 °C for 24 h. CEGA exhibited the characteristics of a gel (solid-like material), similar to those described by Pintado et al. (2015a), whereas CE behaved like a viscous material but lacked a gel structure similar to other emulsion made with proteins (soy protein isolated or caseinate) and olive oil (Jiménez-Colmenero et al., 2010).

### 2.2. Preparation of frankfurters

Sufficient (35 kg per trial) fresh post-rigour pork meat (mixture of *biceps femoris*, *semimembranosus*, *semitendinosus*, *gracilis* and *adductor M*) (22.1% ± 0.4 protein, 5.08% ± 0.6 fat) and pork backfat (5 kg per trial) (7.5% ± 0.7 protein, 86.7% ± 1.9 fat), both from different animals, were obtained from a local market in different days.

Six different frankfurter types were prepared (Table 1). Two of them were formulated with all pork backfat (P), one with normal fat (N) (23%) namely N/P (Normal/Pork backfat) and the other with reduced fat (R) (13%) namely R/P (Reduced/Pork backfat), achieved by adding water to partially replace pork backfat. Additionally, four different reduced-fat (13%) frankfurters were formulated, all containing 10% chia flour (Table 1). One reduced-fat frankfurter was made by partially replacing pork backfat with water and chia flour added directly namely R/CP (Reduced fat/with Chia flour and Pork backfat). In addition, three reduced-fat frankfurters were reformulated by totally replacing pork backfat with an identical amount of chia flour and olive oil but incorporated via different procedures: added directly namely R/CO (Reduced fat/with Chia flour and Oil added directly); in the form of a chia oil-in-water emulsion namely R/CE (Reduced fat/with Chia Emulsion), or as chia oil-in-water emulsion gel namely R/CEGA (Reduced fat/with Chia Emulsion Gel with Alginate).

Frankfurters were prepared according to Jiménez-Colmenero et al. (2010) and the formulation describe in Table 1. Briefly, the ingredients were mixed properly and then the meat batter was stuffed into 20 mm diameter Nojax cellulose casings (Viscase S.A., Bagnold Cedex, France). Samples were hand linked and heat processed in an Eller smokehouse (model Unimatic 1000, Micro 40, Eller, Merano, Italy). Frankfurters (around 2500 g of frankfurter by sample) were then cooled (at room temperature), removed from their casings, and preparing vacuum packed (13 packed per sample with 5 sausages of 30–34 g and 11 cm longer each sausage) in plastic bags (Cryovac® BB3050, Boi de Llobregat, Spain) and stored at 2 °C (± 1 °C). Analyses were carried out at 1, 9, 20, 41 and 65 days. The entire meat system processing procedure was replicated twice on two different days.

### 2.3. Composition and energy content

Moisture and ash contents were determined by AOAC, 2005; fat content was evaluated according to Bligh and Dyer (1959) and protein content was measured in a LECO FP-2000 Nitrogen Determinator (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA). Mineral content determination was based on methods reported by Pintado et al., 2015b. Briefly, samples were prepared by acid digestion and then minerals were quantified on an inductively coupled plasma (ICP) spectrophotometer (Perkin-Elmer, Model 4300 DV, Norwalk, Connecticut, USA). All determinations were performed in triplicate.

Total dietary fibre (TDF) was determined in triplicate using the enzymatic-gravimetric method (AOAC, 2002). Insoluble dietary fibre (IDF) was evaluated by neutral detergent fibre determination (van Soest, Robertson, & Lewis, 1991). IDF was measured in triplicate.

**Table 1**  
Formulation (%) of frankfurters.

Samples*	Meat	Pork back fat	Chia flour	Olive oil	CE**	CEGA***	Water
N/P	55.0	21.0	—	—	—	—	21.7
R/P	55.0	11.0	—	—	—	—	31.7
R/CP	55.0	7.0	10	—	—	—	25.7
R/CO	55.0	—	10	6.5	—	—	26.2
R/CE	55.0	—	—	—	38.7	—	4.0
R/CEGA	55.0	—	—	—	—	38.7	4.0

Additives added to all the samples per 100 g of product: 1.5 g NaCl; 0.3 g sodium tripolyphosphate; 0.5 g flavouring and 0.012 g sodium nitrite.

\*Frankfurter formulated with pork backfat (P) and different levels of fat: normal fat namely N/P; reduced fat namely R/P; reduced fat and chia flour (C) added directly namely R/CP. Reduced fat frankfurters reformulated by totally replacing pork backfat: with olive oil in liquid form (O) and chia flour added directly namely RF/CO, with chia oil-in-water emulsion namely RF/CE, and with chia oil-in-water emulsion gel with alginate namely RF/CEGA.

\*\*CE: chia oil-in-water emulsion: 16.8% olive oil; 57.36% water and 25.84% chia flour.

\*\*\*CEGA: chia oil-in-water emulsion gel: 16.8% olive oil, 55.36% water, 25.84% chia flour, and gelling agent based on 2% alginate (0.73% sodium alginate, 0.73% CaSO<sub>4</sub> and 0.54% pyrophosphate).

Fatty acid composition of frankfurters was determined (in quintuplicate) by gas chromatography as reported by [Pintado et al. \(2015b\)](#). Results are expressed as mg of fatty acid per 100 g of product.

The energy content was calculated based on 9 kcal/g for fat; 4 kcal/g for protein and carbohydrates and 2 kcal/g for dietary fibre ([Regulation \(EU\) No 1169/2011](#)).

## 2.4. Technological properties

### 2.4.1. Processing loss and pH

Processing loss was calculated in ten frankfurters, as the weight loss (expressed as percentage of initial sample weight) occurring after heat processing and chilling overnight at 2 °C.

pH values were measured in quadruplicate using a 827 Metrohm pH-metre (MetrohmAG, Switzerland) at room temperature on homogenates (ratio of 1:10 w/v of sample/distilled water).

### 2.4.2. Colour

Colorimetric analysis (CIE-LAB tristimulus values, lightness, L\*; redness, a\* and yellowness, b\*) was performed directly on frankfurter cross-sections using a CR-400 Chroma Metre (Konica Minolta Business Technologies, Tokyo, Japan). Ten determinations were carried out per sample.

### 2.4.3. Purge

Three vacuum packs per formulation were used to determine purge at each storage time ([Pintado et al., 2015b](#)). After the frankfurters were removed from the package, the surface exudate (tiny drops) was wiped off with paper towels and the frankfurters were weighed again. The purge was calculated by weight difference and expressed as a percentage of the initial weight.

### 2.4.4. Textural properties

Textural properties were analysed (six times) by texture profile analysis (TPA) performed in a TA-XT.plus Texture Analyser (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY, USA) as described by [Bourne \(1978\)](#). Frankfurter sections (height = 20 mm) were axially compressed to 40% of their original height. Force-time deformation curves were obtained with a 5 kg load cell, applied at a crosshead speed of 1 mm/s. Attributes calculated were: hardness (N), cohesiveness (adimensional), springiness (mm) and chewiness (N\*mm).

### 2.4.5. Lipid oxidation

Lipid oxidation was evaluated in triplicate for each frankfurter formulation as a function of changes in thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) ([Pintado et al., 2015b](#)).

## 2.5. Microbiological analyses

Microbiological analysis of samples was carried out according to [Pintado et al. \(2015b\)](#). The results were expressed as logarithms of colony forming units per gramme (Log cfu/g).

## 2.6. Sensory evaluation

Frankfurters were assessed by a 10-member panel who regularly consume this kind of products. The panel was selected after preliminary training (two sessions) with the products and terminology. Samples (2.5 cm long) from each formulation were heated for 15 s in a microwave (Saivod, Spain) at 1200 W, then immediately presented to panellists. Judges were instructed to evaluate texture, colour, flavour and general acceptability (0 = dislike extremely, 10 = like extremely) on a hedonic scale rating test with fixed extremes. Each point was later converted to a numerical scale. Sensory analysis was performed 5 days after preparation of the frankfurters.

## 2.7. Statistical analysis

The entire trial was replicated. One-way analysis of variance (ANOVA) was performed to evaluate the statistical significance ( $P < 0.05$ ) of the effect of frankfurter formulation and two-way ANOVA as a function of formulation and storage time using the SPSS Statistics general linear model (GLM) procedure (v.22, IBM SPSS Inc.; Chicago, IL, USA). Formulation and storage time was assigned as fixed effects and replication as a random effect. Least squares differences were used for comparison of mean values among formulations and Tukey's HSD test to identify significant differences ( $P < 0.05$ ) between formulations and storage time.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Composition and energy content

#### 3.1.1. Proximate analysis

Frankfurter composition ([Table 2](#)) was affected by formulation (reported in [Table 1](#)). Moisture content was lower ( $P < 0.05$ ) in normal-fat samples (N/P) than in reduced-fat samples ([Table 2](#)). These results are consistent with the fact that the pork backfat used in N/P was totally (in the case of R/P) or partially (rest of the samples) replaced by different proportions of water (as added water or as a component of non-meat ingredients) ([Table 1](#)).

All frankfurters reformulated with chia flour had higher ( $P < 0.05$ ) protein contents than N/P or R/P samples irrespective of the reformulation process ([Table 2](#)) because these samples contained about 2% of protein from chia. Frankfurter protein content supplied more than 20% of the total energy content, so all these samples could merit a "high protein" claim and according to [Commission Regulation \(EU\) 432/2012](#) with health claims described in [Table 3](#). In the case of N/F and R/F, this was all meat protein, whereas in the other samples, depending on the formulation ([Table 1](#)), around 12% of the protein came from chia flour. Although chia is not offered commercially as a protein source, it has a high quality amino acid profile and contains no gluten ([Ayerza & Coates, 2011](#)). Chia is a good source of sulphur and levels of glutamic and aspartic acids are particularly high ([Sandoval-Oliveros & Paredes-lópez, 2013](#)). This is of interest due to the potential of glutamic acid to stimulate the central nervous and immune systems, and of aspartic acid for hormonal regulation for the proper functioning of the nervous system ([Blenford, 1996](#)).

Fat content was consistent with the target levels, and reduced-fat samples had similar ( $P > 0.05$ ) fat contents ([Table 2](#)). The modified products achieved a fat reduction of approximately 43% with respect to normal-fat sample (N/P) and so could merit a "reduced fat" claim ([Table 3](#)). The lipid content in N/P and R/P samples came from lean pork meat and pork backfat (all pork fat), whereas in R/CP lipid content result from meat ingredients and around 22% came from chia, and in the other samples (R/CO, R/CE and R/CEGA) originate from lean pork meat, chia and olive oil ([Table 1](#)). In the case of R/CO, R/CE and R/CEGA frankfurters, formulated with olive oil (around 6.5 g/100 g) and chia flour (10 g/100 g), approximately 73% of product fat content came from vegetable oils (6.5% olive oil and 3% chia lipid content). Hence given the nature and composition of the lipid components, these reformulation strategies could improve the fatty acid profiles of meat products, as reflected by the fatty acids results detailed further below ([Table 4](#)).

With the incorporation of chia flour, TDF content was approximately 5%, while the all-pork-backfat samples without chia (N/P and R/P) lacked any dietary fibre ([Table 2](#)). Dietary fibre is recognized as an important part of the complete diet, and although the recommendations regarding the intake of dietary fibre are not the same in all countries, it is believed that a fibre intake of 28–36 g/day for adults is desirable, 70–80% of which must be insoluble fibre ([Mehta, Ahlawat, Sharma, & Dabur, 2015](#)). Consumption of 100 g of these reformulated frankfurters with chia flour would supply approximately 17% of that intake.

**Table 2**

Proximate analysis (%), energy content (kcal/100 g of product) and mineral content (mg/100 g product) of frankfurters.

Parameters	Samples*					
	N/P	R/P	R/CP	R/CO	R/CE	R/CEGA
Proximate analysis						
Moisture	59.18 <sup>a</sup> ± 0.05	68.99 <sup>d</sup> ± 0.23	63.42 <sup>b</sup> ± 0.06	64.01 <sup>c</sup> ± 0.03	63.29 <sup>b</sup> ± 0.14	63.37 <sup>b</sup> ± 0.39
Protein	14.17 <sup>a</sup> ± 0.16	14.03 <sup>a</sup> ± 0.16	16.12 <sup>b</sup> ± 0.13	15.96 <sup>b</sup> ± 0.40	16.24 <sup>b</sup> ± 0.14	16.39 <sup>b</sup> ± 0.11
Fat	23.05 <sup>b</sup> ± 0.36	12.52 <sup>a</sup> ± 0.82	13.27 <sup>a</sup> ± 0.15	13.03 <sup>a</sup> ± 0.13	13.16 <sup>a</sup> ± 0.06	12.53 <sup>a</sup> ± 0.19
Total dietary fibre	–	–	4.90 <sup>a</sup> ± 0.57	5.80 <sup>a</sup> ± 0.65	5.00 <sup>a</sup> ± 0.56	5.71 <sup>a</sup> ± 0.66
Ash	2.80 <sup>a</sup> ± 0.03	2.66 <sup>a</sup> ± 0.04	3.06 <sup>b</sup> ± 0.05	3.03 <sup>b</sup> ± 0.01	3.21 <sup>c</sup> ± 0.11	3.62 <sup>d</sup> ± 0.06
Energy content	264.13	171.46	196.65	195.61	196.34	192.64
Mineral content						
Sodium	755.6 <sup>b</sup> ± 19.8	735.9 <sup>b</sup> ± 18.8	724.9 <sup>b</sup> ± 32.9	635.7 <sup>a</sup> ± 44.1	699.4 <sup>ab</sup> ± 30.7	774.0 <sup>b</sup> ± 52.0
Potassium	211.8 <sup>a</sup> ± 12.8	221.7 <sup>a</sup> ± 2.5	281.4 <sup>c</sup> ± 7.8	253.4 <sup>b</sup> ± 12.5	278.6 <sup>c</sup> ± 0.9	307.3 <sup>c</sup> ± 6.5
Magnesium	14.68 <sup>a</sup> ± 0.83	16.35 <sup>a</sup> ± 0.14	41.53 <sup>b</sup> ± 1.41	42.58 <sup>b</sup> ± 2.27	43.52 <sup>b</sup> ± 1.03	47.13 <sup>c</sup> ± 0.94
Calcium	5.40 <sup>a</sup> ± 0.34	7.39 <sup>b</sup> ± 0.87	55.75 <sup>c</sup> ± 2.41	58.83 <sup>c</sup> ± 4.85	60.13 <sup>c</sup> ± 1.99	116.04 <sup>d</sup> ± 4.23
Iron	0.79 <sup>a</sup> ± 0.09	0.93 <sup>a</sup> ± 0.21	1.26 <sup>b</sup> ± 0.07	1.31 <sup>b</sup> ± 0.09	1.38 <sup>b</sup> ± 0.27	1.32 <sup>b</sup> ± 0.05
Manganese	0.08 <sup>a</sup> ± 0.00	0.09 <sup>a</sup> ± 0.00	0.51 <sup>b</sup> ± 0.02	0.54 <sup>b</sup> ± 0.04	0.53 <sup>b</sup> ± 0.01	0.55 <sup>b</sup> ± 0.01
Phosphorus	219.3 <sup>a</sup> ± 3.1	226.6 <sup>a</sup> ± 0.9	297.6 <sup>b</sup> ± 1.4	288.9 <sup>b</sup> ± 10.53	298.0 <sup>b</sup> ± 6.9	359.1 <sup>c</sup> ± 9.9

\*For samples denominations see Table 1.

Means ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

Additionally, since fibre content in samples containing chia was higher than 3 g/100 g of product, these could be labelled as a “source of fibre” (Table 3). IDF (mainly consisting of cellulose, part of hemicellulose and lignin) was similar ( $P > 0.05$ ) in frankfurters with chia in the present study and ranged between 98 and 99% of TDF. These results are consistent with reports in the existing literature, which indicate that IDF predominates in chia (Reyes-Caudillo et al., 2008; Vázquez-Ovando, Rosado-Rubio, Chel-Guerrero, & Betancur-Ancona, 2009). The insoluble fraction of dietary fibre has been related to intestinal regulation and has been associated with potential health benefits such as reduction of the risk of breast or colon cancer (Abuajah, Ogbonna, & Osuji, 2015).

Ash contents were highest ( $P < 0.05$ ) in R/CEGA samples, possibly due to the compounds added for alginate gelification (Pintado et al., 2015a).

### 3.1.2. Energy content

The energy content of the normal-fat frankfurters (N/P) was 264.13 kcal/100 g and ranged between 171.46 and 196.65 kcal/100 g (Table 2) in reduced fat samples (R/P, R/CP, R/CO, R/CE and R/CEGA); this meant a reduction of 26–36% in the energy contents of these reformulated samples.

**Table 3**

Nutrition and health claims authorized in some reformulated frankfurters with chia according to Regulation (EC) No 1924/2006 and Commission Regulation (EU) No 432/2012.

Nutrition claims	Conditions applying to them	Health claims
High protein	Be made where at least 20% of the energy value of the food is provided by protein.	Proteins contribute to: <ul style="list-style-type: none"> <li>– a growth in muscle mass</li> <li>– the maintenance of muscle mass</li> <li>– the maintenance of normal bones</li> </ul> Protein is needed for normal growth and development of bone in children.
Reduced fat	Be made where the reduction in content is at least 30% compared to a similar product.	–
Source of fibre	Be made where the product contains at least 3 g of fibre per 100 g or at least 1.5 g of fibre per 100 kcal.	–
Source of manganese	Be made where the product contains at least a significant amount as defined in the Annex to Directive 90/496/EEC (>15% of 2 mg)	Manganese contributes to: <ul style="list-style-type: none"> <li>– normal energy-yielding metabolism</li> <li>– the maintenance of normal bones</li> <li>– the normal formation of connective tissue</li> <li>– the protection of cells from oxidative stress</li> </ul> ALA contributes to the maintenance of normal blood cholesterol levels. Information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 2 g of ALA.
High omega-3 fatty acids	Be made where the product contains at least 0.6 g alpha-linolenic acid (ALA)/100 g of product	ALA contributes to the maintenance of normal blood cholesterol levels. Information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 2 g of ALA.
High unsaturated fat	Be made where at least 70% of the fatty acids present in the product derive from unsaturated fat under the condition that unsaturated fat provides more than 20% of energy of the product.	Replacing saturated fats with unsaturated fats in the diet contributes to the maintenance of normal blood cholesterol levels [MUFA* and PUFA* are unsaturated fats]

\*MUFA: Monounsaturated fatty acid. \*PUFA: Polyunsaturated fatty acid.

### 3.1.3. Mineral content

Mineral contents of frankfurters formulated with animal fat without chia (N/P and R/P) were comparable to similar products (Ayo et al., 2007). Reformulated frankfurters containing chia had the highest levels ( $P < 0.05$ ) of K, Mg, Ca, Fe, Mn and P regardless of the lipid content and the chia incorporation strategy (Table 1). It has been reported that chia flour, contains high concentrations of minerals (Capitani, Spotorno, Nolasco, & Tomás, 2012; Pintado et al., 2015b). In some cases the increase was quite considerable; for example, samples formulated with chia contained approximately 10 times more calcium, and the increase in the ones made with chia emulsion gel (R/CEGA) was approximately 18-fold (Table 3). This is because of the Ca needed for the gelling agent. The presence of chia also increased Mg and Mn content by about 64 and 68% respectively. In addition, Mn levels (Table 2) were 15% higher than the recommended daily allowances (RDAs) (2 mg/100 g product), and hence these frankfurters could merit a claim as a source of Mn and according to Commission Regulation (EU) 432/2012 with the health claims described in Table 3.

### 3.1.4. Fatty acid composition

The fatty acid contents of the different samples are reported in Table 4. All the frankfurters formulated with chia and olive oil (R/CO,



**Table 4**

Fatty acid profile (g/100 g product) and total content (%), nutritional significance ratios and energy content (EC) of unsaturated fatty acids (USFA % in the product) of frankfurters.

Parameters	Samples*			
	N/P	R/P	R/CP	**R/CO; R/CE; R/CEGA
Myristic C14:0	0.24 <sup>c</sup> ± 0.02	0.15 <sup>b</sup> ± 0.00	0.11 <sup>a</sup> ± 0.01	—
Palmitic C16:0	5.82 <sup>d</sup> ± 0.03	3.12 <sup>c</sup> ± 0.03	2.49 <sup>b</sup> ± 0.19	1.30 <sup>a</sup> ± 0.04
Stearic C18:0	3.47 <sup>d</sup> ± 0.07	1.78 <sup>c</sup> ± 0.03	1.38 <sup>b</sup> ± 0.10	0.49 <sup>a</sup> ± 0.01
***Σ SFA (%)	44.49 <sup>c</sup>	43.6 <sup>c</sup>	32.68 <sup>b</sup>	15.88 <sup>a</sup>
Palmitoleic C16:1	0.43 <sup>c</sup> ± 0.01	0.24 <sup>b</sup> ± 0.00	0.19 <sup>ab</sup> ± 0.02	0.10 <sup>a</sup> ± 0.01
Vaccenic C 18:1 n7	0.64 <sup>d</sup> ± 0.01	0.34 <sup>c</sup> ± 0.00	0.28 <sup>b</sup> ± 0.02	0.23 <sup>a</sup> ± 0.01
Oleic C18:1n9	9.29 <sup>d</sup> ± 0.07	4.94 <sup>b</sup> ± 0.02	3.74 <sup>a</sup> ± 0.28	6.01 <sup>c</sup> ± 0.12
Eicosenoic C20:1n9c	0.28 <sup>d</sup> ± 0.00	0.15 <sup>c</sup> ± 0.00	0.10 <sup>b</sup> ± 0.01	0.03 <sup>a</sup> ± 0.00
***Σ MUFA (%)	49.08 <sup>b</sup>	48.45 <sup>b</sup>	37.45 <sup>a</sup>	55.27 <sup>c</sup>
Linoleic C18:2n6	1.22 <sup>bc</sup> ± 0.01	0.77 <sup>a</sup> ± 0.02	1.27 <sup>c</sup> ± 0.09	1.21 <sup>b</sup> ± 0.03
Linolenic C18:3n3	0.07 <sup>a</sup> ± 0.00	0.06 <sup>a</sup> ± 0.03	2.08 <sup>b</sup> ± 0.15	2.13 <sup>b</sup> ± 0.04
***Σ PUFA (%)	6.49 <sup>a</sup>	7.82 <sup>a</sup>	27.64 <sup>b</sup>	28.96 <sup>b</sup>
***PUFA/SFA	0.13 <sup>a</sup> ± 0.00	0.16 <sup>a</sup> ± 0.01	0.70 <sup>c</sup> ± 0.11	0.52 <sup>b</sup> ± 0.02
n-6/n-3	19.90 <sup>b</sup> ± 0.66	19.20 <sup>b</sup> ± 1.04	0.64 <sup>a</sup> ± 0.02	0.56 <sup>a</sup> ± 0.02
***Σ USFA (%)	55.57 <sup>a</sup>	56.27 <sup>a</sup>	65.09 <sup>b</sup>	84.23 <sup>c</sup>
EC USFA (%)	43.47 <sup>b</sup>	37.46 <sup>a</sup>	41.29 <sup>b</sup>	50.59 <sup>c</sup>

\*For frankfurters denominations see Table 1.

\*\*R/CO, R/CE and R/CEGA contained similar proportions and types of fat and data reported are the mean values of these samples.

\*\*\*SFA: saturated fatty acid. MUFA: monounsaturated fatty acid. PUFA: polyunsaturated fatty acid. USFA: unsaturated fatty acid.

Means ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

R/CE and R/CEGA) contained similar proportions and types of fat, and so the data reported are the mean values of these samples. Fatty acid composition was affected by fat level and the use of vegetable oils (from olive oil and chia flour).

In all-animal-fat products (N/P and R/P), SFAs and MUFAs made up more than 90% of the fatty acid content. These results are consistent with reports for fatty acid composition of frankfurters (Delgado-Pando et al., 2010) and for pork fat (Wood et al., 2004). Compared with all animal fat (N/P and R/P), those containing only chia flour as a fat replacer (R/CP) had less ( $P < 0.05$ ) SFAs and MUFAs (over 90% versus 69% of total fatty acids), but more ( $P < 0.05$ ) PUFAs (Table 4). Irrespective of the incorporation strategy, products with added chia flour and olive oil (R/CO, R/CE and R/CEGA – Table 1) contained the least SFAs and the most MUFAs (mainly oleic acid) of the reduced fat samples. All samples containing chia flour had similar ( $P > 0.05$ ) PUFA levels (linolenic acid), more than 3 times higher than any of the animal fat samples (Table 4). These results are consistent with the fatty acid composition of the different lipid material sources present in each product. Although differences in fatty acid composition of chia were found depending on their localization and provenance, linolenic acid was the predominant fatty acid in the chia lipid fraction (Ayerza & Coates, 2011; Bushway, Wilson, Houston, & Bushway, 1984). Frankfurters formulated with emulsion gels containing 11% olive oil and 1% of chia flour as fat replacers in the final product had less SFAs and more MUFAs and n-3 PUFAs than those formulated with pork backfat (Pintado et al., 2015b). The fatty acid composition of hamburgers formulated with chia showed increased PUFA levels and linolenic acid specifically into the product (Souza et al., 2015). In other food products such as bread it has been observed that the incorporation of chia reduced SFA levels by about 24% and increased linolenic acid levels (Coelho & Salas-Mellado, 2015; Costantini et al., 2014).

Bearing in mind that the dietary recommendation for total n-3 PUFA is estimated at between 1.4–3 g/day or even higher, while the estimated daily range for long chain n-3 PUFAs is between 0.18–1 g (EFSA, 2005; Garg, Wood, Singh, & Moughan, 2006), the frankfurters with chia, containing over 2 g/100 g of product (Table 4), can make a very important contribution to dietary intake as compared to those made without chia. This composition would warrant a number of nutrition and health claims (Table 3). Frankfurters formulated with chia could be labelled with the nutritional claim “high omega-3 fatty acids” and the corresponding health claim, since all of them contained more than 0.3 g of  $\alpha$ -linolenic acid (Table 4). Furthermore, in the ones with chia and olive oil (R/CO, R/CE and R/CEGA), unsaturated lipid contents (MUFA

and PUFA) account for more than 70% of the total fat in the product and more than 20% of the energy content (Table 4). These could therefore merit a health claim of “high unsaturated fat” and the corresponding health claim (Table 3).

The PUFA/SFA ratio is one of the main parameters used to assess the nutritional quality of the lipid fraction in foods and it is recommended that it should be greater than 0.4 (Wood et al., 2004). Samples with chia ranged between 0.52 and 0.70 (R/CP, R/CO, R/CE and R/CEGA) (Table 4), close to the levels reported for meat products with vegetable oil in their formulation (Pintado et al., 2015b; Salcedo-Sandoval, Cofrades, Ruiz-Capillas, Solas, & Jiménez-Colmenero, 2013).

Excessive amounts of n-6 PUFA and a very high n-6/n-3 PUFA ratio, promote the pathogenesis of many diseases, including cardiovascular disease, cancer, and inflammatory and autoimmune diseases, whereas increased levels of n-3 PUFA (a lower n-6/n-3 ratio), exert suppressive effects (Simopoulos, 2008). Frankfurters formulated with chia reduced this ratio to 0.64 and 0.56 (R/CP and R/CO, R/CE and R/CEGA, respectively) from values of over 15. Other authors have also reported that addition of chia to meat products contributed to lower n-6/n-3 ratios (Pintado et al., 2015b; Souza et al., 2015).

### 3.2. Technological properties

#### 3.2.1. Processing loss and pH

Processing loss ranged between 11.63 and 17.00% (Table 5), which may be considered normal in products of this kind, including those made with an oil-in-water emulsion or an emulsion gel as fat replacers (Delgado-Pando et al., 2010; Pintado et al., 2015b). The all-animal-fat sausages with reduced fat levels (R/P) registered the greatest processing loss. Since protein content was kept constant and the fat was replaced by water, the resulting matrix had poorer water-binding properties and hence with the highest ( $P > 0.05$ ) processing loss values (Choi et al., 2014; Jiménez-Colmenero et al., 2010; Pintado et al., 2015b). The incorporation of chia flour, irrespective of the procedure used to incorporate it, reduced ( $P < 0.05$ ) processing loss to levels comparable to normal-fat sample (N/P) (Table 5).

As Table 5 shows, pH values, ranging between 6.22 and 6.41, were within the normal limits for products of this kind (Bloukas & Paneras, 1993; Jiménez-Colmenero et al., 2012; Pintado et al., 2015b; Salcedo-Sandoval et al., 2013). The lowest ( $P < 0.05$ ) pH values were recorded in the normal-fat frankfurter (N/F). Of the reduced-fat samples, the ones made with olive oil and chia stabilized in an emulsion gel (R/CEGA) exhibited the lowest ( $P < 0.05$ ) pH. Since pH values were

**Table 5**  
Processing loss (%), pH values, colour parameters [(L\*) lightness, (a\*) redness and (b\*) yellowness)] and lipid oxidation (TBARs values, expressed as mg MDA/kg sample) of frankfurters.

Samples*	Processing loss	pH**	Colour parameters**			TBARs**
			L*	a*	b*	
N/P	12.36 <sup>ab</sup> ± 0.87	6.22 <sup>a</sup> ± 0.01	72.88 <sup>e</sup> ± 0.2	7.81 <sup>d</sup> ± 0.32	8.98 <sup>b</sup> ± 0.37	0.04 <sup>a</sup> ± 0.01
R/P	17.00 <sup>c</sup> ± 2.11	6.30 <sup>c</sup> ± 0.01	68.93 <sup>d</sup> ± 0.4	9.28 <sup>e</sup> ± 0.31	8.02 <sup>a</sup> ± 0.36	0.04 <sup>a</sup> ± 0.00
R/CP	13.31 <sup>b</sup> ± 1.41	6.32 <sup>c</sup> ± 0.00	64.46 <sup>a</sup> ± 0.6	6.55 <sup>c</sup> ± 0.16	10.70 <sup>c</sup> ± 0.24	0.16 <sup>b</sup> ± 0.05
R/CO	13.32 <sup>b</sup> ± 0.85	6.39 <sup>d</sup> ± 0.01	65.78 <sup>b</sup> ± 1.1	5.97 <sup>b</sup> ± 0.25	11.65 <sup>d</sup> ± 0.32	0.16 <sup>b</sup> ± 0.03
R/CE	13.42 <sup>b</sup> ± 0.76	6.41 <sup>d</sup> ± 0.01	65.53 <sup>b</sup> ± 0.6	5.96 <sup>b</sup> ± 0.27	12.51 <sup>e</sup> ± 0.41	0.14 <sup>b</sup> ± 0.01
R/CEGA	11.63 <sup>a</sup> ± 1.08	6.26 <sup>b</sup> ± 0.00	68.11 <sup>c</sup> ± 0.5	5.16 <sup>a</sup> ± 0.33	13.32 <sup>f</sup> ± 0.26	0.15 <sup>b</sup> ± 0.03

\*For frankfurter denominations see Table 1.

\*\*pH values, colour parameters and TBARs values were not influenced ( $P > 0.05$ ) by chilling storage and data are mean values over storage. Means ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

not influenced ( $P > 0.05$ ) by chilling storage, Table 5 shows only the mean values over the storage period.

### 3.2.2. Colour parameters

There were formulation-dependent differences ( $P < 0.05$ ) in colour parameters (Table 5). These could be attributed to the chia and the lipid material, given that the use of these materials instead of animal fat does not perfectly reproduce the colour effect of pork backfat on the reformulated frankfurters (R/CP, R/CO, R/CE and R/CEGA). Lightness (L\*) values were lower ( $P < 0.05$ ) in all-reduced-fat samples, but significant differences were found depending on the fat reduction procedure (Table 5). Animal fat reduction increased ( $P < 0.05$ ) redness and reduced ( $P < 0.05$ ) yellowness in all-pork-backfat samples (Table 5). Generally, lightness and redness were lower in frankfurters containing chia, irrespective of the incorporation strategy (Table 5), possibly due to the dark colour of this compound (Coelho & Salas-Mellado, 2015; Muñoz et al., 2013; Steffolani et al., 2015). Samples reformulated with olive oil (R/CO, R/CE and R/CEGA) registered the highest ( $P < 0.05$ ) yellowness (Table 5), which was attributed to the yellowish-green colour of olive oil. Similarly, effects on colour have been reported in cooked sausages when fat replacers, containing high proportions of olive oil were used (Berasategi et al., 2014; Jiménez-Colmenero et al., 2010; Pintado et al., 2015b; Ruiz-Capillas, Carmona, Jiménez-Colmenero, & Herrero, 2013). Chilling storage affected colour parameters very little, and so Table 5 shows only the mean values over storage. Other authors have reported although there were variations in some colour parameters of meat products of this kind, chilled storage generally had little effect on them (Bloukas & Paneras, 1993; Pintado et al., 2015b; Salcedo-Sandoval et al., 2013).

### 3.2.3. Lipid oxidation

TBARs values (<0.35 mg MDA/kg product, Table 5) were below the level of incipient rancidity ( $\geq 1.0$ ) irrespective of formulation (Ockerman, 1976). All the frankfurters reformulated with chia registered higher TBARs values (0.142–0.163 mg MDA/kg product), but these were lower than in other products in which animal fat had been replaced by a vegetable oil in different ways (Delgado-Pando et al., 2011; Özvural & Vural, 2011; Pintado et al., 2015b; Poyato, Ansorena, Berasategi, Navarro-Blasco, & Astiasarán, 2014). Chia contain highly unsaturated fatty acids, especially  $\alpha$ -linolenic (Ayerza & Coates, 2011; Ixtaina et al., 2011; Muñoz et al., 2013), which could account for the relatively high degree of lipid oxidation observed. TBARs values were not significantly affected by chilling storage, and so Table 5 shows only the mean values over storage. The low TBARs levels in frankfurters reformulated with chia generally suggest that these products are viable in terms of oxidative stability despite their high

unsaturated fatty acid contents. This pattern of lipid oxidation could be related to the presence of antioxidant compounds in chia (Ixtaina et al., 2011).

### 3.2.4. Purge

Purge values ranged from 1.16 to 2.83% (Table 6), similar to those reported previously in frankfurters (Delgado-Pando et al., 2011; Pintado et al., 2015b; Salcedo-Sandoval et al., 2013), indicating good storage stability in terms of fat and water-binding properties of the meat matrix. A comparison of only reduced-fat samples (Table 6) shows that the presence of chia produced a significant decrease in purge. These behaviour patterns were generally sustained throughout chilling storage, except in the case of samples reformulated with olive oil stabilized in an emulsion (R/CE) or an emulsion gel (R/CEGA), where there was a significant increase in purge at the end of storage, to levels comparable to normal all-pork-backfat samples (N/P). Frankfurters formulated with all pork back fat (N/P and R/P) were not affected by storage (Table 6).

These results indicate that water and fat binding properties (processing and purge) were generally better in sausages containing chia. This is consistent with the fact that both protein and fibre fractions containing chia exhibit good water- and oil-holding capacity and water adsorption capacity (Capitani et al., 2012; Olivós-Lugo et al., 2010). The chia contained high levels of dietary fibre (Table 2) and compounds of this kind have been shown to be effective in retaining water in meat products (Jiménez-Colmenero & Delgado-Pando, 2013; Mehta et al., 2015).

### 3.2.5. Textural properties

TPA parameters of frankfurters were affected ( $P < 0.05$ ) by the formulation strategy used and by chilling storage (Table 6). In all-animal-fat samples (N/P and R/P) fat reduction reduced ( $P < 0.05$ ) hardness. Hardness was lowest ( $P < 0.05$ ) in R/P. When fat content was reduced by increasing the proportion of water while keeping the amount of protein essentially constant (Table 2), reduced-fat products exhibited poorer binding properties and softer texture (Table 6), confirming similar findings reported by others authors (Cavestany, Colmenero, Solas, & Carballo, 1994; Claus, Hunt, & Kastner, 1989). Hardness values were similar ( $P > 0.05$ ) in normal-fat samples (N/P) and reformulated samples containing directly added chia (R/CP and R/CO) irrespective of lipid content (Table 6). Hardness was highest ( $P < 0.05$ ) in samples formulated with chia in an emulsion or an emulsion gel (Table 6). The greater hardness of frankfurters formulated with emulsions or emulsion gels has been related to greater lipid chain disorder or increased lipid-protein interactions observed in these samples (Herrero, Carmona, Pintado, Jiménez-Colmenero, & Ruiz-Capillas, 2012; Pintado et al., 2015a). Given that the protein-moisture ratio and lipid contents were similar in all frankfurters reformulated with chia (R/CP; R/CO; R/CE and R/CEGA), the differences in hardness of these samples (Table 6) would appear to be due to the presence of chia flour and the way in which it was incorporated. This textural behaviour could be due to the result of technological properties of chia, which supplies sufficient emulsifying activity to provide high emulsion stability as well as useful gelling properties (Ayerza & Coates, 2011; Coorey et al., 2014; Olivós-Lugo et al., 2010). Chia protein in composed chiefly of globulins, although it also contains smaller proportions of albumins, glutelins and

**Table 6**

Purge (%) and texture profile analysis (TPA) parameters of frankfurters during chilled storage.

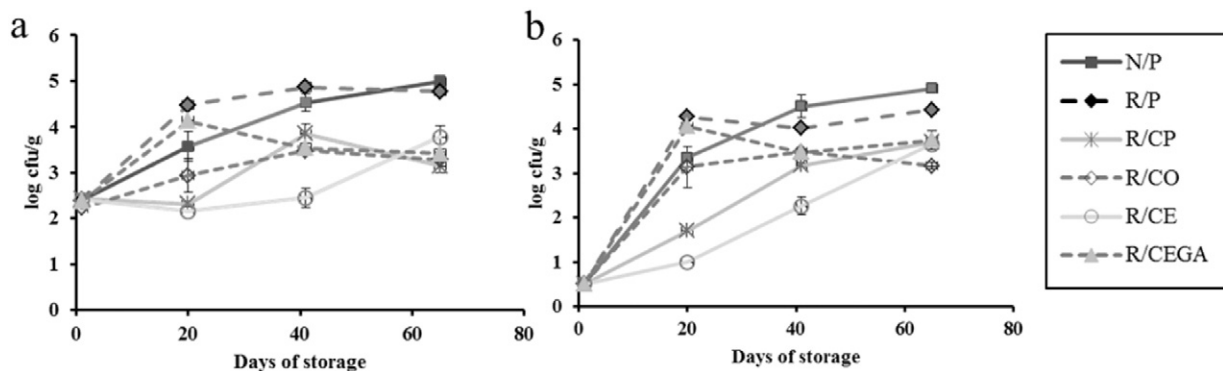
Parameters	Samples*	Days				
		1	9	20	41	65
Purge	N/P	–	2.17 <sup>bc1</sup> ± 0.20	2.03 <sup>bc1</sup> ± 0.32	1.69 <sup>a1</sup> ± 0.38	2.07 <sup>ab1</sup> ± 0.05
	R/P	–	2.69 <sup>c1</sup> ± 0.08	2.49 <sup>c1</sup> ± 0.31	2.83 <sup>b1</sup> ± 0.03	2.82 <sup>c1</sup> ± 0.06
	R/CP	–	1.68 <sup>ab1</sup> ± 0.04	1.58 <sup>ab1</sup> ± 0.06	1.77 <sup>a1</sup> ± 0.30	1.57 <sup>a1</sup> ± 0.01
	R/CO	–	1.96 <sup>ab1</sup> ± 0.03	1.32 <sup>a1</sup> ± 0.25	1.76 <sup>a1</sup> ± 0.29	1.57 <sup>a1</sup> ± 0.07
	R/CE	–	1.32 <sup>a1</sup> ± 0.26	1.53 <sup>ab12</sup> ± 0.52	1.16 <sup>a1</sup> ± 0.56	2.08 <sup>ab2</sup> ± 0.18
	R/CEGA	–	1.54 <sup>ab1</sup> ± 0.05	1.56 <sup>ab1</sup> ± 0.09	1.68 <sup>a12</sup> ± 0.29	2.31 <sup>bc2</sup> ± 0.00
Hardness (N)	N/P	19.21 <sup>b1</sup> ± 1.2	19.92 <sup>b1</sup> ± 0.7	24.35 <sup>b2</sup> ± 0.5	24.13 <sup>b2</sup> ± 0.9	24.63 <sup>b2</sup> ± 1.5
	R/P	13.32 <sup>a1</sup> ± 0.7	14.84 <sup>a1</sup> ± 0.6	17.92 <sup>a2</sup> ± 0.8	17.83 <sup>a2</sup> ± 1.0	17.84 <sup>a2</sup> ± 0.3
	R/CP	19.43 <sup>b1</sup> ± 1.1	21.21 <sup>bc2</sup> ± 1.1	23.92 <sup>b3</sup> ± 0.5	23.70 <sup>b3</sup> ± 0.9	25.41 <sup>b3</sup> ± 0.5
	R/CO	19.94 <sup>b1</sup> ± 0.7	22.38 <sup>c2</sup> ± 1.0	25.20 <sup>b3</sup> ± 1.2	25.18 <sup>b3</sup> ± 1.3	24.88 <sup>b3</sup> ± 1.0
	R/CE	21.63 <sup>c1</sup> ± 1.5	25.05 <sup>d2</sup> ± 0.5	25.26 <sup>b2</sup> ± 1.0	27.64 <sup>c3</sup> ± 1.5	29.07 <sup>c3</sup> ± 0.7
	R/CEGA	21.30 <sup>c1</sup> ± 1.4	24.77 <sup>d2</sup> ± 0.7	24.96 <sup>b2</sup> ± 1.3	27.29 <sup>c3</sup> ± 1.1	28.11 <sup>c3</sup> ± 1.1
Cohesiveness	N/P	0.66 <sup>c2</sup> ± 0.01	0.67 <sup>c2</sup> ± 0.01	0.64 <sup>c1</sup> ± 0.01	0.65 <sup>b12</sup> ± 0.01	0.65 <sup>bc12</sup> ± 0.01
	R/P	0.70 <sup>d2</sup> ± 0.01	0.70 <sup>d2</sup> ± 0.00	0.67 <sup>d1</sup> ± 0.00	0.70 <sup>c2</sup> ± 0.01	0.71 <sup>d2</sup> ± 0.00
	R/CP	0.59 <sup>a1</sup> ± 0.02	0.60 <sup>a12</sup> ± 0.01	0.59 <sup>a1</sup> ± 0.01	0.61 <sup>a23</sup> ± 0.01	0.62 <sup>a3</sup> ± 0.01
	R/CO	0.63 <sup>b1</sup> ± 0.01	0.64 <sup>b12</sup> ± 0.01	0.63 <sup>c1</sup> ± 0.01	0.65 <sup>b2</sup> ± 0.00	0.65 <sup>bc2</sup> ± 0.00
	R/CE	0.64 <sup>b1</sup> ± 0.01	0.64 <sup>b12</sup> ± 0.01	0.64 <sup>c12</sup> ± 0.01	0.66 <sup>b23</sup> ± 0.01	0.66 <sup>c3</sup> ± 0.00
	R/CEGA	0.61 <sup>a1</sup> ± 0.01	0.63 <sup>b2</sup> ± 0.01	0.61 <sup>b1</sup> ± 0.01	0.64 <sup>b2</sup> ± 0.01	0.64 <sup>b2</sup> ± 0.01
Springiness (mm)	N/P	6.33 <sup>b1</sup> ± 0.18	6.37 <sup>bc12</sup> ± 0.18	6.43 <sup>c12</sup> ± 0.14	6.57 <sup>bc12</sup> ± 0.17	6.66 <sup>c2</sup> ± 0.10
	R/P	6.72 <sup>c12</sup> ± 0.22	6.59 <sup>c1</sup> ± 0.23	6.71 <sup>c12</sup> ± 0.09	6.83 <sup>c12</sup> ± 0.16	7.00 <sup>d2</sup> ± 0.18
	R/CP	5.74 <sup>a1</sup> ± 0.18	5.68 <sup>a1</sup> ± 0.16	5.65 <sup>a1</sup> ± 0.15	5.87 <sup>a1</sup> ± 0.15	5.89 <sup>a1</sup> ± 0.15
	R/CO	6.25 <sup>b12</sup> ± 0.18	6.19 <sup>b1</sup> ± 0.22	6.48 <sup>c12</sup> ± 0.34	6.43 <sup>b12</sup> ± 0.18	6.57 <sup>b2</sup> ± 0.36
	R/CE	6.37 <sup>b1</sup> ± 0.11	6.40 <sup>bc1</sup> ± 0.10	6.61 <sup>c1</sup> ± 0.24	6.58 <sup>bc1</sup> ± 0.16	6.51 <sup>bc1</sup> ± 0.17
	R/CEGA	6.08 <sup>b1</sup> ± 0.15	6.16 <sup>b12</sup> ± 0.12	6.07 <sup>b1</sup> ± 0.15	6.40 <sup>b2</sup> ± 0.12	6.28 <sup>b12</sup> ± 0.06
Chewiness (N*mm)	N/P	80.26 <sup>b1</sup> ± 6.3	84.67 <sup>b1</sup> ± 3.8	99.73 <sup>bc2</sup> ± 4.8	103.69 <sup>b2</sup> ± 6.3	106.53 <sup>b2</sup> ± 6.0
	R/P	62.36 <sup>a1</sup> ± 5.2	68.14 <sup>a1</sup> ± 4.5	80.42 <sup>a2</sup> ± 4.1	85.43 <sup>a2</sup> ± 5.6	88.33 <sup>a2</sup> ± 3.7
	R/CP	66.12 <sup>a1</sup> ± 4.1	72.46 <sup>a1</sup> ± 3.6	80.31 <sup>a2</sup> ± 3.8	85.25 <sup>a2</sup> ± 4.8	92.79 <sup>a2</sup> ± 3.2
	R/CO	76.93 <sup>b1</sup> ± 3.8	88.65 <sup>bc1</sup> ± 6.4	102.70 <sup>c2</sup> ± 9.5	105.84 <sup>b2</sup> ± 8.1	106.33 <sup>b2</sup> ± 4.2
	R/CE	87.92 <sup>b1</sup> ± 7.8	103.25 <sup>d2</sup> ± 3.1	107.12 <sup>c2</sup> ± 8.5	119.37 <sup>c3</sup> ± 8.07	125.19 <sup>c3</sup> ± 5.8
	R/CEGA	79.18 <sup>b1</sup> ± 7.5	96.10 <sup>cd2</sup> ± 3.8	92.72 <sup>b2</sup> ± 6.4	111.92 <sup>bc3</sup> ± 4.9	112.90 <sup>b3</sup> ± 4.7

\*For frankfurters denominations see Table 1.

Means ± standard deviation. Different letters in the same column and different numbers in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

prolamis (Sandoval-Oliveros & Paredes-lópez, 2013). The denaturation temperature of globulins, albumins and glutelins is above 90 °C, but in prolamins it ranges between 70 and 80 °C (Olivos-Lugo et al., 2010; Sandoval-Oliveros & Paredes-lópez, 2013). They may therefore act as gelling agents, promoting frankfurter gelling (70 °C) to some extent and supplying the final product with desirable technological characteristics such as texture. A comparison of all-reduced-fat frankfurters showed that the ones made with chia (R/CP, R/CO, R/CE and R/CEGA) exhibited the lowest cohesiveness and springiness (Table 6). Frankfurters formulated with chia and olive oil (R/CO, R/CE and R/CEGA), added directly or in an emulsion, exhibit the highest chewiness, comparable to normal-fat samples with all pork backfat (N/P). Previous research indicates that reduced-fat frankfurters reformulated with an O/W emulsion gel with alginate, transglutaminase or gelatin and containing a low concentration of chia (1%) registered higher hardness

and chewiness than reduced-fat samples formulated with pork backfat (Pintado et al., 2015b). Chia contains a high concentration of fibre, and it has been reported that fibre addition increases hardness and chewiness in frankfurters (Choe, Kim, Lee, Kim, & Kim, 2013; Choi et al., 2013). All samples registered increased ( $P < 0.05$ ) hardness during chilling storage. The hardest were the ones in which the olive oil had first been emulsified (R/CE and R/CEGA) (Table 6). Other authors have reported increased in hardness during chilling storage of cooked sausages in which an emulsion, a gelled emulsion or an oil bulking agent is used as an animal fat replacer (Herrero, Ruiz-Capillas, Jiménez-Colmenero, & Carmona, 2014; Pintado et al., 2015b; Poyato et al., 2014). There was no clear trend in cohesiveness, springiness and chewiness associated with chilling storage and formulation, but these parameters did generally tend to increase ( $P < 0.05$ ) during storage. Similar textural behaviour during chilling storage has been reported by other authors in

**Fig. 1.** Microorganism (a: total viable count, b: lactic acid bacteria) counts (log cfu/g) of frankfurters during chilled storage. For samples denominations see Table 1.



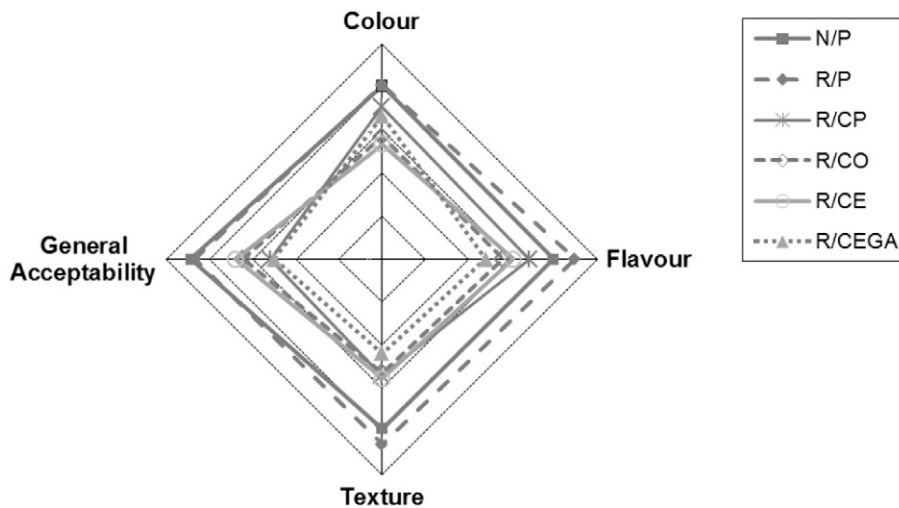


Fig. 2. Sensory evaluation of frankfurters. For frankfurter denominations see Table 1.

frankfurters reformulated with olive oil, either emulsified (Pintado et al., 2015b) or stabilized in a polysaccharide gel, as animal fat replacers (Herrero et al., 2014; Salcedo-Sandoval et al., 2013).

### 3.3. Microbiological analyses

Initial total viable count (TVC) was very low ( $<3$  Log cfu/g) even Enterobacteria (data not shown) and LAB levels were  $<1$  Log cfu/g, and in any case there were significant formulation-related differences. These results are in relation to the thermal processing in this kind of meat products.

Microbial growth was observed during storage with samples reformulation (Fig. 1). At day 20 of storage the largest increases of TVC and LAB were observed in N/P, R/CEGA and particularly R/P samples. This could be a result of high moisture content produced by fat reduction and this moisture would provide a better environment for bacterial growth (Andres, Garcia, Zaritzky, & Califano, 2006; Ruiz-Capillas, Carballo, & Jiménez Colmenero, 2007). In samples R/CP, R/CO and R/CE reformulated with chia the increase was observed at day 40, after which the level remained constant until the end of storage (Fig. 1). Microbial growth (TVC and LAB) was lower in all the samples reformulated with chia than in control samples reformulated without chia (N/P and R/P). Oil is also reported to have antimicrobial effects, but in this case the effect of the chia on the samples seems to have been more significant, given that samples R/CP, containing olive oil, also had low microorganism levels. This could have been due to the polyphenols in the chia (Reyes-Caudillo et al., 2008), which have been reported to possess considerable antimicrobial power (Daglia, 2012).

In all cases the levels of microorganisms TVC and LAB and Enterobacteriaceae remained below 5 Log cfu/g and 3 Log cfu/g throughout storage (Fig. 1). As expected, and as reported by other authors (Jiménez-Colmenero et al., 2010) the principal flora were LAB, as the sausages were vacuum-packed. Microorganism levels like these, especially in the ones reformulated with chia, guarantee that the product is safe for consumers.

### 3.4. Sensory evaluation

Fig. 2 shows the sensory evaluation of the different frankfurters. The sensory panel scores for frankfurters were affected by formulation. In general reduced-fat frankfurters with all animal fat (R/P) scored significantly better for all the sensory parameters considered, although the scores of normal-fat samples (N/P) for colour and general acceptability

were comparable. The addition of chia to frankfurters produced lower scores ( $P < 0.05$ ) for colour, flavour, texture and general acceptability (Fig. 2) irrespective of the addition strategy followed; however, all of these samples were judged acceptable by the panellists. The texture of the products containing chia was similar ( $P < 0.05$ ) except for the ones formulated with chia O/W emulsion gel (R/CEGA), which scored lowest ( $P < 0.05$ ). This difference could be minimized by using a lower concentration of alginate-based gelling agent or different proportions of ingredients in the preparation.

Similar findings have been reported in frankfurters formulated with an emulsion gel as fat replacer when compared with normal-fat samples (Pintado et al., 2015b). Similarly, sensory evaluation in other foods such as bread and cake indicated that addition of chia flour produced significant differences as regards acceptability, colour, texture and taste, although the panellists did not dislike these products (Borneo, Aguirre, & León, 2010; Pizarro et al., 2013; Coelho & Salas-Mellado, 2015; Steffolani et al., 2015.).

## 4. Conclusions

This research suggests that in general the strategies used to incorporate high concentrations of chia in reduced-fat frankfurters are feasible and may be a good choice for enhancing their nutritional composition and healthier properties without adversely affecting the technological properties of the final product. Reformulated frankfurters with chia contained significantly greater amounts of proteins, insoluble dietary fibre, minerals (K, Mg, Ca, Fe, P and Mn), and especially high levels of MUFAs and n-3 PUFAs (mainly linolenic acid). Given this nutritional profile, the products thus produced could qualify for labelling with a variety of nutrition and health claims.

Besides the nutritional aspects, these reformulations strategies entail changes in the technological characteristics of the products, improving some like water and fat binding properties. The textural behaviour of the reduced-fat frankfurters depends on the strategy followed to add the chia. For instance, the products made with an emulsion or emulsion gel containing chia were harder. In general, although differences were detected in the sensory attributes of frankfurters reformulated with chia, these products were judged acceptable by panellists.

The technological properties of frankfurters reformulated with chia were not generally greatly affected by chilled storage, irrespective of the incorporation strategy followed. These products exhibited good stability to oxidation and safety during storage.

## Acknowledgements

This research was supported under Projects AGL2010-19515/ALI and AGL2011-29644-C02-01 of the Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I + D + I), Ministerio de Economía y Competitividad, and Intramural projects CSIC: 201470E056 and 201470E073.

## References

- Abuajah, C. I., Ogbonna, A. C., & Osuji, C. M. (2015). Functional components and medicinal properties of food: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2522–2529.
- Andres, S. C., Garcia, M. E., Zaritzky, N. E., & Califano, A. N. (2006). Storage stability of low-fat chicken sausages. *Journal of Food Engineering*, 72(4), 311–319.
- AOAC (2002). *Official methods of analysis of AOAC International* (18th ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- AOAC (2005). *Official methods of analysis of AOAC International* (18th ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*, 34, 1366–1371.
- Ayo, J., Carballo, J., Serrano, J., Olmedilla-Alonso, B., Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Effect of total replacement of pork backfat with walnut on the nutritional profile of frankfurters. *Meat Science*, 77, 173–181.
- Berasategi, I., Navarro-Blasco, I., Calvo, M. I., Cervero, R. Y., Astiasarán, I., & Diana Ansorena, D. (2014). Healthy reduced-fat Bologna sausages enriched in ALA and DHA and stabilized with *Melissa officinalis* extract. *Meat Science*, 96, 1185–1196.
- Blenford, D. E. (1996). Use of amino acids and peptides in sport nutrition. *International Foods Ingredients*, 3, 20–23.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Bloukas, J. G., & Paneras, E. D. (1993). Substituting olive oil for pork backfat affects quality of low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, 58, 705–709.
- Borneo, R., Aguirre, A., & León, A. L. (2010). Chia (*Salvia hispanica* L.) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *Journal of the American Dietetic Association*, 110, 946–949.
- Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62–65.
- Bresson, J. L., Flynn, A., Heinonen, M., Hulshof, K., Korhonen, H., Lagiou, P., Løvik, M., Marchelli, R., Martin, A., Moseley, B., Przyrembel, H., Salminen, S., Strain, J. J., Strobel, S., Tetens, I., van den Berg, H., van Loveren, H., and Verhagen, H. (2009). Opinion on the safety of chia seeds (*Salvia Hispanica* L.) and ground whole chia seeds as a food ingredient. The European Food Safety Authority Journal, 996, 1–26.
- Bushway, A. A., Wilson, A. M., Houston, L., & Bushway, R. J. (1984). Selected properties of the lipid and protein fractions from chia seed. *Journal of Food Science*, 49, 555–557.
- Capitani, M. I., Spotorino, V., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 45, 94–102.
- Cavestany, M., Colmenero, F. J., Solas, M. T., & Carballo, J. (1994). Incorporation of sardine surimi in bologna sausage containing different fat levels. *Meat Science*, 38, 27–37.
- Choe, J. H., Kim, H. Y., Lee, J. M., Kim, Y. J., & Kim, C. J. (2013). Quality of frankfurter-type sausages with added pig skin and wheat fiber mixture as fat replacers. *Meat Science*, 93, 849–854.
- Choi, Y. S., Kim, H. W., Hwang, K. E., Song, D. H., Choi, J. H., Lee, M. A., ... Kim, C. J. (2014). Physicochemical properties and sensory characteristics of reduced-fat frankfurters with pork back fat replaced by dietary fiber extracted from makgeolli lees. *Meat Science*, 96, 892–900.
- Choi, Y. S., Park, K. S., Kim, H. W., Hwang, K. E., Song, D. H., Choi, M. S., ... Kim, C. J. (2013). Quality characteristics of reduced-fat frankfurters with pork fat replaced by sunflower seed oils and dietary fiber extracted from makgeolli lees. *Meat Science*, 93, 652–658.
- Claus, J. R., Hunt, M. C., & Kastner, C. L. (1989). Effects of substituting added water for fat on the textural, sensory and processing characteristics of Bologna. *Journal of Muscle Foods*, 1, 1–21.
- Coelho, M. S., & Salas-Mellado, M. M. (2015). Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 729–736.
- Coorey, R., Tjoe, A., & Jayasena, V. (2014). Gelling properties of chia seed and flour. *Journal of Food Science*, 79, E859–E866.
- Costantini, L., Luksic, L., Molinari, R., Kreft, I., Bonafaccia, G., Manzi, L., & Merendino, N. (2014). Development of gluten-free bread using Tarty buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chemistry*, 165, 232–240.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 174–181.
- Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2010). Healthier lipid combination as functional ingredient influencing sensory and technological properties of low-fat frankfurters. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 859–870.
- Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., Triki, M., & Jiménez-Colmenero, F. (2011). Low fat frankfurters formulated with a healthier lipid combination as functional ingredient: Microstructure, lipid oxidation, nitrite content, microbiological changes and biogenic amine formation. *Meat Science*, 89, 65–71.
- EFSA (2005). Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to nutrition claims concerning omega-3 fatty acids, monounsaturated fat, polyunsaturated fat and unsaturated fat. *EFSA Journal*, 253, 1–29.
- Garg, M. L., Wood, L. G., Singh, H., & Moughan, P. J. (2006). Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. *Journal of Food Science*, 71, R66–R71.
- Herrero, A. M., Carmona, P., Pintado, T., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2012). Lipid and protein structure analysis of frankfurters formulated with olive oil-in-water emulsion as animal fat replacer. *Food Chemistry*, 135, 133–139.
- Herrero, A. M., Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F., & Carmona, P. (2014). Raman spectroscopic study of structural changes upon chilling storage of frankfurters containing olive oil bulking agents as fat replacers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5963–5971.
- Iglesias-Puig, E., & Haros, M. (2013). Evaluation of performance of dough and bread incorporating chia (*Salvia hispanica* L.). *European Food Research and Technology*, 237, 865–874.
- Inglett, G. E., Chen, D., & Liu, S. (2014). Physical properties of sugar cookies containing chia-oat composites. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 3226–3233.
- Ixtaina, V. Y., Martínez, M. L., Spotorino, V., Mateo, C. M., Maestri, D. M., Diehl, B. W. K., ... Tomás, M. C. (2011). Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 166–174.
- Jiménez-Colmenero, F., & Delgado-Pando, G. (2013). Fibre-enriched meat products. In J. Delcour, & K. Poutanen (Eds.), *Fibre-rich and wholegrain foods* (pp. 329–347). Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition.
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., Herrero, A. M., Fernández-Martín, F., Rodríguez-Salas, L., & Ruiz-Capillas, C. (2012). Konjac gel fat analogue for use in meat products: Comparison with pork fats. *Food Hydrocolloids*, 26, 63–72.
- Jiménez-Colmenero, F., Herrero, A. M., Pintado, T., Solas, M. T., & Ruiz-Capillas, C. (2010). Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. *Food Research International*, 43, 2068–2076.
- Jin, F., Nieman, D. C., Sha, W., Xie, G., Qiu, Y., & Jia, W. (2010). Supplementation of milled chia seeds increases plasma ALA and EPA in postmenopausal women. *Plant Food for Human Nutrition*, 67, 105–110.
- Marín-Flores, M. F. J., Acevedo-Mascarúa, J., Cavada-Martínez, I. A., García-Romero, S. M., & Tamez-Ramírez, M. (2008). Method for producing meat products with a high nutritional value through the addition of *Salvia hispanica* L. WO Patent, 041835 A2, April, 10th.
- Mehta, N., Ahlawat, S. S., Sharma, D. P., & Dabur, R. S. (2015). Novel trends in development of dietary fiber rich meat products—A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 633–647.
- Mohd Ali, N., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Tan, S. W., & Tan, S. G. (2012). The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 171956.
- Muñoz, L. A., Cobos, A., Díaz, O., & Aguilera, J. M. (2013). Chia seed (*Salvia hispanica*): An ancient grain and a new functional food. *Food Reviews International*, 29, 394–408.
- Ockerman, H. W. (1976). *Quality control of post mortem muscle and tissue*. Columbus, USA: Department of Animal Science, Ohio State University.
- Olivos-Lugo, B. L., Valdivia-López, M. A., & Tecante, A. (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Food Science and Technology International*, 16, 89–96.
- Özçural, E. B., & Vural, H. (2011). Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. *Meat Science*, 88, 179–183.
- Parliament, E. (2006). Regulation (EC) no 1924/2006 of the European parliament and of the council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. In E. Parliament Ed., (1924/2006).
- Parliament, E. (2011). Regulation (EU) no 1169/2011 of the European parliament and of the council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers. In E. Parliament (Ed.), (1169/2011).
- Parliament, E. (2012). Regulation (EU) no 432/2012 of the European parliament and of the council of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. In E. Parliament (Ed.), (432/2012).
- Pintado, T., Herrero, A. M., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Carmona, P., & Jiménez-Colmenero, F. (2015b). Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological and structural properties of frankfurters with improve lipid content. *Food Science and Technology International*. <http://dx.doi.org/10.1177/1082013215577033>.
- Pintado, T., Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F., Carmona, P., & Herrero, A. M. (2015a). Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica* L.) and cold gelling agents: Technological and infrared spectroscopic characterization. *Food Chemistry*, 185, 470–478.
- Pizarro, P. L., Almeida, E. L., Sammán, N. C., & Chang, Y. K. (2013). Evaluation of whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour and hydrogenated vegetable fat in pound cake. *LWT - Food Science and Technology*, 54, 73–79.
- Poyato, C., Ansorena, D., Berasategi, I., Navarro-Blasco, I., & Astiasarán, I. (2014). Optimization of a gelled emulsion intended to supply  $\omega$ -3 fatty acids into meat products by means of response surface methodology. *Meat Science*, 98, 615–621.
- Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., & Valdivia-López, M. A. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry*, 107, 656–663.
- Ruiz-Capillas, C., Carballo, J., & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Biogenic amines in pressurized vacuum-packaged cooked sliced ham under different chilled storage conditions. *Meat Science*, 75(3), 397–405.
- Ruiz-Capillas, C., Carmona, P., Jiménez-Colmenero, F., & Herrero, A. M. (2013). Oil bulking agents based on polysaccharide gels in meat batters: A Raman spectroscopic study. *Food Chemistry*, 141, 3688–3694.

- Salcedo-Sandoval, L., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., & Jiménez-Colmenero, F. (2013). Healthier oils stabilized in konjac matrix as fat replacers in n-3 PUFA enriched frankfurters. *Meat Science*, 93, 757–766.
- Sandoval-Oliveros, M. R., & Paredes-López, O. (2013). Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 193–201.
- Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233, 674–688.
- van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.
- Souza, A. H. P., Gohara, A. K., Rotta, E. M., Chaves, M. A., Silva, C. M., Dias, L. F., ... Matsushita, M. (2015). Effect of the addition of chia's by-product on the composition of fatty acids in hamburgers through chemometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 928–935.
- Steffolani, E., Martinez, M. M., León, A. E., & Gómez, M. (2015). Effect of pre-hydration of chia (*Salvia hispanica* L.), seeds and flour on the quality of wheat flour breads. *LWT - Food Science and Technology*, 61, 401–406.
- Vázquez-Ovando, A., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 42, 168–173.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., ... Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66, 21–32.

#### **4.6 Chia and oat emulsion gels as new animal fat replacers and healthy bioactive sources in fresh sausage formulation**

*Meat Science (en revisión)*



**Chia and oat emulsion gels as new animal fat replacers and healthy bioactive  
sources in fresh sausage formulation**

Pintado, T., Herrero, A.M., Jiménez-Colmenero, F., Pasqualin Cavalheiro, C., Ruiz-  
Capillas, C. \*

Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC). José Antonio  
Novais, 10, 28040 Madrid, Spain.

\* Author to whom the correspondence should be addressed:

C. Ruiz-Capillas, Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC).

José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, Spain.

Phone:+34 915616800

E-mail: claudia@ictan.csic.es

## Abstract

This paper examines the effect of emulsion gels (EG) prepared with olive oil, chia (CEG) and oats (OEG) used as animal fat replacers in reduced-fat fresh sausages (*longaniza*), LRF/CEG and LRF/OEG respectively, during chilled storage. Normal (LNF/P) and reduced-fat (LRF/P) (all-pork-fat) sausages were used as controls. Nutritional composition and microbiological, technological and sensory characteristics were evaluated. The presence of an EG affected ( $P < 0.05$ ) the concentrations of some minerals and amino acids in sausages. CEG improved MUFA and PUFA contents. Cooking loss was lower ( $P < 0.05$ ) in LRF/CEG and LRF/OEG. Among all reduced-fat samples, samples containing EG showed higher Kramer shear force values (KSF). KSF generally increased over storage in all samples. The microbial count was significantly affected by the use of CEG in the formulation. Sensory properties were affected by the incorporation of an EG, but all sausages were judged acceptable.

**Keywords:** fresh sausage; chia; oat; emulsion gel; nutritional composition; technological properties

## 1. Introduction

Fresh pork sausages, such as “*Longanizas*” (a popular type of product in Spain), are an excellent source of valuable nutrients normally present in meat products (proteins, iron, vitamins, etc.). However, this type of products has been associated with some negative health concerns regarding high fat content (over 27%), an unhealthy fatty acid profile and high energy value and Na contents (EFSA, 2010; McAfee *et al.*, 2010).

Structuring oils to create a plastic fat which retains solid-like properties, while possessing a healthier fatty acid profile, has recently been proposed as a new possibility to improve fat content while avoiding undesirable quality changes in the final reformulated meat product (Jimenez-Colmenero *et al.*, 2015). In this regard solid-like lipid materials such as oil bulking systems or structured emulsions, particularly oil-in-water emulsion gels (EG), have been used in healthier lipid meat product reformulation processes (Ruiz-Capillas *et al.*, 2013; Herrero *et al.*, 2014; Poyato *et al.*, 2014; Jimenez-Colmenero *et al.*, 2015; Alexandre *et al.*, 2016). But despite the fact that the use of EG is potentially an especially suitable technology for improving fat content in fresh meat products (patties, fresh sausages, etc.), where the appearance and structure of fat replacers are more important than in finally comminuted products, there has been very little research. Poyato *et al.* (2015) reported the use of a sunflower oil gelled emulsion based on carrageenan and Polysorbate 80 as a pork backfat replacer in fresh meat product (patties) formulation.

An interesting approach to the development of EG as animal fat replacers would be the use of some plant based-ingredients, which are also sources of healthy fatty acids, fibre, minerals, antioxidants or vitamins, among others. In this regard, chia (*Salvia hispanica*, L.) flour or oat (*Avena Sativa*, L.) bran have been used both for their healthier compounds [ $\alpha$ -linolenic acid (ALA), fibre insoluble,  $\beta$ -glucans, antioxidants or minerals, etc.] and their useful technological properties (gelling capacity, emulsifying



activity, fat/water binding capacity, etc.) (Arendt & Zannini, 2013; Coorey *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015) to develop structured emulsions, particularly emulsion gels (Pintado *et al.*, 2015b; Pintado *et al.*, 2017). Chia EG have been used to replace animal fat in frankfurters without this adversely affecting the technological properties of the final product and to enhance their nutritional composition (Pintado *et al.*, 2015a; Pintado *et al.*, 2016). While oats have been added directly in the formulation of fresh product to overcome fat reduction limitations (Yilmaz & Daglioglu, 2003; Pinero *et al.*, 2008; Angiolillo *et al.*, 2015), as far as the authors know there have been no studies on the preparation and use of oat emulsion gels.

The aim of the present work was to evaluate the effect of using oil-in-water emulsion gels (EG), prepared with olive oil and chia flour and oat bran, as animal fat replacers, in terms of nutritional composition, technological properties, microbiological and sensory characteristics of reduced-fat fresh sausages (*longaniza* type) during chilled storage (18 days at 2 °C). These structured EG, with solid-lipid functionality, have been designed for reformulated fresh sausages, as delivery systems for different healthier bioactive plant compounds (from olive oil, chia flour and oat bran) present in the EG. Normal- and reduced-fat (all-pork-fat) fresh sausages were used as controls.

## **2 Materials and methods**

### **2.1 Oil-in-water emulsions gel preparation**

Two different oil-in-water (O/W) emulsions gels (EG) were formulated as animal fat replacers. Chia EG (CEG) was prepared with 20 % chia (*Salvia hispanica* L.) flour (Primaria Premium Raw Materials, S. L. Valencia, Spain), 20 % olive oil (Carbonell Virgen Extra, SOS Cuétara S.A., Madrid, Spain), 58 % water and 2 % of a gelling agent based on alginate. An oat bran EG (OEG) was prepared with 20 % oat bran (OatWell® 22%, Zeus Química, S.A. Barcelona, Spain), 20 % olive oil, 58 % water

and 2 % of the alginate-based gelling agent. The gelling agent was formulated with 0.73 % sodium alginate (Tradissimo, TRADES S.A., Barcelona, Spain), 0.73 %  $\text{CaSO}_4$  and 0.54 % sodium pyrophosphate (Panreac Química, S.A. Madrid, Spain). According to the suppliers, the composition of the chia and oat materials used was: chia flour with 22 % protein, 31.3 % fat (of which 19 %  $\alpha$ -linolenic fatty acid), 5.1 % carbohydrates, and 30.2 % total fibre content (mainly insoluble fibre); oat bran with 20 % protein, 5 % fat, 20 % carbohydrates and 44 % total fibre content (of which 22 %  $\beta$ -glucans); and olive oil with 14.87 % SFA, 75.32 % MUFA and 8.97 % PUFA (Delgado-Pando *et al.*, 2010).

Both EG were prepared according to (Pintado *et al.*, 2015b; Pintado *et al.*, 2017). Briefly, first for each type of EG, chia flour or oat bran was mixed in a homogenizer (Thermomix TM 31, VorwerkEspaña M.S.L., S.C, Madrid, Spain) with water (30 seconds, approx. 5600 rpm), then the gelling agent was added and mixed (15 seconds, approx. 5600 rpm). The final mixture was mixed at approx. 5600 rpm with gradual addition of the appropriate amount of olive oil. Finally, each sample was placed in metal containers under pressure to compact it and prevent air bubbles, and stored in a chilled room at 2 °C for 20 h until use.

## 2.2 *Experimental design and manufacture of fresh sausage*

Fresh sausages (“*longanizas*”) were designed to both reduce fat content and favour the incorporation of healthy fatty acids [monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) (mainly  $\alpha$ -linolenic acid: ALA)] and other healthy bioactive compounds (minerals, insoluble fibre,  $\beta$ -glucans, etc.) supplied by olive oil, chia flour or oat bran, so that the reformulated products could be labelled with some healthy properties.

Sufficient (30 kg) fresh post-rigor pork meat (mixture of biceps *femoris*, *semimembranosus*, *semitendinosus*, *gracilis* and *adductor M*) (20.76 % protein, 1.72 % fat) and pork backfat (6 kg) (0.52 % protein, 94.61 % fat), both from different animals, were obtained from a local market on different days. The meat was trimmed of visible fat and connective tissue. Lots of approximately 500 g were vacuum packed, frozen and stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  until use.

Four different fresh sausages formulations were prepared (Table 1) and each formulation was replicated three times. Two were formulated with all pork backfat (P) as reference: one with normal fat content ( $\sim 29\%$ , LNF/P) and the other with reduced fat content ( $\sim 10\%$ , LRF/P), the latter prepared by replacing 75 % of pork backfat with added water. Additionally, two different reduced-fat ( $\sim 10\%$ ) fresh sausages were formulated replacing partially pork back fat with CEG (LRF/CEG) or OEG (LRF/OEG) (Table 1).

Meat and pork backfat packages were thawed ( $\sim 18\text{ h}$  at  $2 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) before use. These materials, and previously-prepared chia or oat emulsions gels (CEG and OEG), were minced to a particle size of 6 mm (Vam.Dall. Srl. Modelo FTSHI, Treviglio, Italy). According to each formulation (Table 1), the appropriate ingredients were placed in a mixer (MAINCA, Granollers, Barcelona, Spain) and homogenized for 1 min. Half of the water and additives were added to the mixture and mixed for 1 min. After this, the other half of the water and a commercial seasoning preparation for fresh sausages (AVI, ANVISA, Madrid, Spain) was added and the whole mixed again for 2 min. The mixture was kept at  $4 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 2 hours and then stuffed into 22 mm-diameter natural lamb casings (Type C-20/22 Julio Criado Gómez S.A., Spain) using a manual stuffer (MAINCA, Granollers, Barcelona, Spain). Samples were hand-linked to  $10 \pm 2\text{ cm}$  and the resulting strings of fresh sausages were covered with plastic and placed in a room at

2 °C overnight. After that, the sausages were placed on EPS trays (Type 89 white SPT—Linpac Packaging Pravia, S.A. N R.G.S., Spain), covered with oxygen-permeable cling film (LINPAC Plastics, Pontivy, France) in aerobic conditions and kept at 2 °C. Samples from each batch were analyzed at days 0, 4, 7, 13 and 18 to monitor the effect of storage on quality characteristics. The casing first removed for all analyses.

## 2.3 Composition and energy content

### 2.3.1 Proximate analysis and energy value

Moisture and ash contents were determined in triplicate according to AOAC (2005). Fat content was evaluated in triplicate following the method of Bligh & Dyer (1959). Protein was measured in quadruplicate with a Nitrogen Determinator LECO FP-2000 (Leco Corporation, St Joseph, MI. USA). Total dietary fibre (TDF) was estimated from chia and oat bran composition according to supplier data. Energy content was calculated based on 9 kcal/g for fat; 4 kcal/g for protein and carbohydrate and 2 kcal/g for dietary fibre (European Commission, 2011)

### 2.3.2 Mineral content

For mineral content determination, freeze-dried samples (Lyophilizer Telstar-Cryodos Equipment, Tarrasa, Spain) were prepared by acid digestion (Pintado *et al.*, 2015a). The minerals were quantified on a ContrAA 700 High-Resolution Continuum Source spectrophotometer (Analytik Jena AG, Jena, Germany) equipped with a Xenon short-arc lamp (GLE, Berlin, Germany). Three determinations were carried out per sample to measure Mg, Na, K, Zn, Fe, and Mn and results were expressed as mg/100 g product.

### 2.3.3 Amino acid profile

Amino acid content was determined and measured using ninhydrin derivative reagent and separated by means of cation-exchange chromatography, using a Biochron

20 automatic amino acid analyser (Amersham Pharmacia Biotech. Biocom, Uppsala, Sweden) following the methodology described in Serrano *et al.* (2005).

#### 2.3.4 Fatty acid profile

Fatty acid contents were determined (in triplicate) by saponification and bimethylation as described by Lee *et al.* (2012), using C13:0 as internal patron. Fatty acid methyl ester (FAME) was analyzed by gas chromatography on an Agilent gas chromatograph (Model 7820A, CA-USA) fitted with a GC-7 Agilent HP-88 capillary column (60 m  $\times$  250  $\mu$ m  $\times$  0.2  $\mu$ m), and a flame ionization detector was used. Injector and detector temperatures were 250 and 260 °C respectively. The temperature profile of the oven was 125 °C, increasing by 8 °C/min to 145 °C (held for 26 min) and 2 °C/min to 220 °C (held for 5 min). Fatty acids were identified by comparison of the retention times with a standard of fatty acids (47015-U Supelco PUFA No.2 Animal Source, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA). Fatty acids were expressed as mg of FAME/100 g product.

### 2.4 Technological properties

#### 2.4.1 pH determination

pH values were determined in quadruplicate using a 827 Metrohm pH-meter (MetrohmAG, Switzerland) at room temperature on homogenates (ratio of 1:10 w/v of sample/distilled water).

#### 2.4.2 Water and fat binding properties

Water and fat binding properties of fresh sausages associated with the thermal process were determined according to Carballo *et al.* (1995). Briefly, total fluid release (TFR), water release (WR) and fat release (FR) were measured after heating (70 °C/30 min, in a water bath) around 20 g of sample (placed in containers of 27 mm diameter). TFR was expressed as % of initial sample weight. WR was determined as weight loss

after heating (16 h/105 °C in a drying oven) and expressed as % of initial sample weight. FR was calculated as the difference between TFR and WR. Three determinations for each sample were carried out.

#### 2.4.3 Texture analysis

Kramer shear force (KSF) was performed using a miniature Kramer (HDP/MK05) cell with a 5-bladed head to perform a shearing test. Kramer shear tests were carried out on 2 cm sections per sausage formulation (previously weighed) at room temperature. A 25 kg load cell load cell was used. Force was exerted to a compression distance of 25 mm at 0.8 mm/s crosshead speed using a TA-Xt.plus Texture Analyzer (Texture Technologies Corp. Scarsdale, NY). KSF values were calculated as the maximum force per g of sample (N/g). Measurements were carried out five times.

#### 2.5 Microbiological analyses

Microbiological analysis of fresh sausages was carried out as follows: 10 g of each sample was aseptically taken and placed in a sterile plastic bag with 90 mL of buffered peptone water (Panreac, Darmstadt, Germany). After 2 min in a stomacher blender (Stomacher Colworth 400, Seward, London, UK), appropriate decimal dilutions were plated or spread on the following media: Plate Count Agar (PCA) (Panreac, Darmstadt, Germany) for the total viable counts (TVC) (37 °C for 48 h), De Man, Rogosa, Sharpe Agar (MRS) (Merck, Darmstadt, Germany) for lactic acid bacteria (LAB) (37 °C for 48 h), and Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG) (Panreac, Darmstadt, Germany) with a double layer for *Enterobacteriaceae* (37 °C for 24 h). All microbial counts were converted to logarithms of colony-forming units per gram (Log cfu/g).

#### 2.6 Sensory analysis

A 20 member sensory panel was selected from staffs members who are familiar with this kind of products and terminology. Samples (at day 2 after preparation) were cooked 2 min at  $210 \pm 4$  °C in a contact electric grill (Princess classic multigrill type 2321, The Netherlands) then cut into 2 cm sections, placed on plates and served to the panelists. These were asked to evaluate the following parameters on a hedonic scale from 0 (dislike) to 10 (like): colour, odour, flavor, texture and general acceptability.

Additional studies were also performed to evaluate the influence of formulation and storage on colour and lipid oxidation of sausages. However, for reasons of space the results will possibly be reported in another paper.

## *2.7. Statistical analysis*

One-way analysis of variance (ANOVA) was performed to evaluate the statistical significance ( $P < 0.05$ ) of the effect of frankfurter formulation and two-way ANOVA as a function of formulation and storage time using the SPSS Statistics general linear model (GLM) procedure (v.22, IBM SPSS Inc.; Chicago, IL, USA). Formulation and storage time was assigned as fixed effects and replication as a random effect and the entire experiment was replicated three times in different days. Least squares differences were used for comparison of mean values among formulations and Tukey's HSD test to identify significant differences ( $P < 0.05$ ) between formulations and storage time.

## **3 Results and discussion**

### *3.1 Composition and energy content*

#### *3.1.1 Proximate analysis and energy value*

Proximate analysis of products, generally close to the target levels, showed some significant differences between formulations (Table 2). While normal fat samples (LNF/P) had the lowest ( $P < 0.05$ ) moisture content all-pork reduced fat sausage (LRF/P) showed the highest ( $P < 0.05$ ) (Table 2). These results are consistent with the

fact that the pork backfat was partially replaced by water in the case of LRF/P or by the corresponding EG in LRF/CEG or LRF/OEG (Table 1). No differences were observed in protein and ash contents irrespective of formulation (Table 2). However, protein provided more than 20 % of the energy value, so the sausages could be labelled with a “high protein” nutritional claim and corresponding health claim (Table 3) (European Commission, 2006; European Union, 2012).

As expected, LNF/P registered the highest ( $P < 0.05$ ) fat content, while the rest of the reduced-fat samples had similar fat levels ( $P > 0.05$ ) (Table 2), reaching fat reductions of between 62-66 %. These products could therefore warrant a “reduced fat” claim (Table 3). Additionally, sausages containing chia flour and oat bran EG (CEG and OEG) registered TDF values of approximately 1.6 and 2.4 % respectively (Table 2).

As compared with normal-fat sausage the reduced-fat samples registered lower (50.8-56.4 %) energy values, and so could be labelled with an “energy-reduced” nutritional claim (Table 3).

### 3.1.2 Mineral content

The mineral content of sausages can be important for purposes of nutrition and health. The mineral content of all-animal-fat samples (LNF/P and LRF/P) was comparable to that of similar products (Moreiras, 2013). In general, the concentration of minerals increased ( $P < 0.05$ ) when either emulsion gel was used in the product formulation (Table 2). Products containing chia (LRF/CEG) displayed the highest ( $P < 0.05$ ) Ca and Mg contents, while those containing oat (LRF/OEG) showed the highest ( $P < 0.05$ ) Fe and Mn contents. These significant amounts suggest the possibility of certain nutritional and health claims for these products (Table 3).

### 3.1.3 Amino acid profile



While the amino acid contents of LNF/P and LRF/P products were similar to those made with all-meat protein (Ayo *et al.*, 2007), the use of chia and oat EG in the product's formulation affected ( $P < 0.05$ ) the concentration of some amino acid. In this regard, as compared with all-meat protein the product made with chia (LRF/CEG) contained higher ( $P < 0.05$ ) proportions of aspartic acid (3.4 %), serin (4.0 %), glutamic acid (3.3 %) and arginine (4.1 %), while the presence of oat (LRF/OEG) increased the levels of serine (3.1 %), glutamic acid (3.7 %) and methionine (18.9 %). These results were consistent with the concentration (1.1-1.2 %) of chia and oat used during the formulation of the sausages and the amino acid composition of these ingredients (Robbins *et al.*, 1971; Olivos-Lugo *et al.*, 2010; Arendt & Zannini, 2013). The presence of amino acids such as arginine, glutamic acid or methionine has been associated with different health benefits, and therefore the changes associated with the reformulation strategy could help to obtain products with a healthy amino acid profile (Kurowska & Carroll, 1994; Feldman, 2002). Especially noteworthy the low lysine/arginine ratio in the samples (LRF/CEG) with chia emulsion gel with effects in reducing atherosclerosis and benefits for heart and blood pressure (Feldman, 2002).

#### 3.1.4 Fatty acid profile

Fatty acid composition was affected by formulation: fat level and source of lipid content (animal fat, olive oil, chia or oat bran) (Table 4).

All-animal-fat products LNF/P and LRF/P registered the highest ( $P < 0.05$ ) SFA content (Table 4), decreasing to levels below 30% of total fatty acid when animal fat was replaced by EG. Of the reduced-fat samples, sausages containing OEG registered the highest ( $P < 0.05$ ) MUFA content (Table 4), up to almost 60 per cent of total fatty acids. Oleic acid was the most abundant fatty acid in all samples (Table 4), although proportionally higher in the products formulated with plant ingredients (47% for

LRF/CEG and 54 % for LRF/OEG). LNF/P had the highest linoleic acid content (Table 4), although this was proportionally higher in the products formulated with EG. Sausage containing chia (LRF/CEG) registered the highest ( $P < 0.05$ ) ALA content, accounting for approximately 10 % of total fatty acids, between 21 and 18 times higher than in the other reduced-fat samples (LRF/P and LRF/OEG). Similarly, other authors (Pintado et al., 2015a; Souza et al., 2015; Pintado et al., 2016) observed an increase in ALA in meat products reformulated with chia. This effect is consistent with the fact that chia contains high levels (> 60%) of ALA (Ayerza & Coates, 2011; Ixtaina *et al.*, 2011). Several studies have demonstrated the beneficial effect of n-3 PUFAs in the prevention of coronary heart diseases by management of hyperlipidaemia, increase of blood LDL-cholesterol, and others (Dias, Garg, Wood, & Garg, 2014). Given that dietary recommendation for total n-3 PUFAs is estimated at between 1.4-3 g/day (Garg *et al.*, 2006; EFSA, 2010), LRF/CEG sausage with 1.08 g of ALA/100 g of product (Table 4), can make a very important contribution to dietary intake. Additionally, samples with chia and oat emulsion gels could qualify for some nutrition and health claims (Table 3).

The reformulation process also improves on recommended PUFA/SFA (> 0.4) and n-6/n-3 PUFA (< 4) ratios (Wood *et al.*, 2004; Simopoulos, 2008), especially with the presence of chia (Table 4). Several authors have improved these ratios by replacing animal fat with vegetable oil in meat product reformulation (Delgado-Pando *et al.*, 2011; Pintado *et al.*, 2015a; Pintado *et al.*, 2016).

### 3.2 Technological properties

#### 3.2.1 Cooking loss

Water and fat binding properties (TFR, FR and WR) were affected ( $P < 0.05$ ) by the formulation but not by chilled storage so Fig. 1 shows only the mean values over the storage period. Sausages made with all-animal-fat had similar ( $P > 0.05$ ) TFR values

(around 24%) irrespective of fat content. However, while in LNF/P most of the fluid release (FR) was fat, in reduced-fat sample was mostly water. On the other hand, TFR in sausages with emulsion gels was  $< 1\%$ . Previous studies showed non-noticeable release of either chia or oat olive oil-in-water emulsion gels after heat treatment (Pintado et al., 2015b; Pintado et al., 2017). All these results indicate that fresh sausages reformulated with a chia or oat emulsion gel as fat replacer are very stable to thermal treatment.

### 3.2.2 pH determination

The pH values of sausages were affected ( $P < 0.05$ ) by formulation but not ( $P > 0.05$ ) by storage. Fig. 1 shows only the mean values over the storage period. The highest ( $P < 0.05$ ) pH values were registered in the samples containing chia and oat, while values were lowest in all-animal-fat samples. These values are consistent with others reported for fresh sausages (Ruiz-Capillas & Jimenez-Colmenero, 2010; Scapin *et al.*, 2015).

### 3.2.3 Texture

KSF were affected ( $P < 0.05$ ) by formulation and storage, with interaction ( $P < 0.05$ ) between the two factors (Table 5). In all-animal-fat sausages, KSF decreased significantly with fat reduction. This effect may be related to the lower relative protein concentration associated with replacement of pork backfat by added water (Table 1). The same behavior has been reported in similar meat products such as fresh sausages and patties (Pinero *et al.*, 2008; López-López *et al.*, 2010; Triki *et al.*, 2013). In reduced-fat sausages, KSF was similar ( $P > 0.05$ ) in samples reformulated with animal fat (LRF/P) and with chia emulsion gel (LRF/CEG), while reformulated sausages with oat emulsion gel LRF/OEG registered similar ( $P > 0.05$ ) KSF than normal-fat samples (LNF/P). Given that the protein–moisture ratio and lipid contents were similar in

samples formulated with EG, the differences found in KSF between LRF/CEG and LRF/OEG (Table 5), would appear to be due to the presence of oat in the emulsion gel. This textural behavior could be due to the technological properties of oat, which can act as emulsifier and stabilizer, providing high emulsion stability as well as acting as a gelling agent (Bohm & Kulicke, 1999; Brummer *et al.*, 2014; Nieto-Nieto *et al.*, 2014).

Generally, KSF increased with time in storage, although the magnitude (generally very scant) and time varied with formulation (Table 5). Other authors have noted a similar textural behavior in fresh meat products (Triki *et al.*, 2013; Overholt *et al.*, 2016). (Pintado *et al.*, 2015b; Pintado *et al.*, 2017) reported a significant increase in puncture force and gel strength of chia and oat structured emulsions during chilled storage. This hardening of both emulsion gel could explain the increase of KSF observed in sausages formulated with oat or chia emulsion gel (LRF/CEG and LRF/OEG) during storage. The same textural behavior was observed in cooked sausages in which a gelled emulsion was used as an animal fat replacer (Poyato *et al.*, 2014; Pintado *et al.*, 2015a; Pintado *et al.*, 2016).

### 3.3 Microbiological analysis

Fresh sausages are highly perishable products and a favorable medium for the growth of microorganism. The initial levels of TVC were lower than 4.5 Log cfu/g and the highest ( $P < 0.05$ ) levels was observed in the sausages formulated with chia emulsion gel (LRF/CEG), also in this sample was observed the highest levels of *Enterobacteriaceae* (3.25 Log cfu/g). The LAB counts were similar ( $P > 0.05$ ) in all sausages. These initial microbiological counts for all samples were lower than others found in similar meat products (Ruiz-Capillas & Jimenez-Colmenero, 2010; Triki *et al.*, 2013).

During chilled storage of sausages was observed a significant increase in the TVC and LAB in the normal-fat sausages (LNF/P) and sausages formulated with chia emulsion gel (LRF/CEG). In this last sample, levels of TVC were higher ( $P < 0.05$ ) than 6 Log cfu/g after day 13 of storage, associated to the higher ( $P < 0.05$ ) levels of LAB and *Enterobacteriaceae*. In all samples, *Enterobacteriaceae* count were decreased ( $< 2$  Log cfu/g) over storage. In general, lower levels of microorganisms were observed than reported by other authors in fresh sausages during chilled storage (Georgantelis *et al.*, 2007; do Amaral *et al.*, 2015). These low levels could be associate to the commercial seasoning preparation used for the fresh sausage (Ruiz-Capillas & Jimenez-Colmenero, 2010; Triki *et al.*, 2013). However, the microbial count was significant affect by the use of CEG in the formulation while the use of OEG no showed any effect compere with the LRF/P.

#### 3.4 Sensory evaluation

Normal and reduced all-animal fat sausages (LNF/P and LRF/P) generally scored significantly higher than the rest for all the sensory parameters considered except for odour, where scores were similar ( $P > 0.05$ ) for all samples (Fig. 2). Additionally, texture scores were similar ( $P > 0.05$ ) for LNF/P, LRF/P and LRF/CEG, while colour scores were similar ( $P > 0.05$ ) for LNF/P, LRF/P and LRF/OEG (Fig. 2). Flavour scores were similar ( $P > 0.05$ ) for LRF/P and LRF/OEG and lowest ( $P < 0.05$ ) for LRF/CEG (Fig. 2). The samples containing an emulsion gel (LRF/CEG and LRF/OEG) scored worse for general acceptability, but all these samples were judged acceptable by the panellists (Fig. 2). Other authors have reported no significant differences in sensory properties (odour, colour, taste, hardness, juiciness and fattiness) for other fresh meat products (burger patties) reformulated with a polyunsaturated gelled emulsion as a replacer for pork back-fat (Poyato *et al.*, 2015).

#### 4 Conclusions

Chia or oat emulsion gels as animal fat replacers may be a novel sources of nutritional and healthy components in frequently-consumed meat products such as fresh sausages (*longaniza* type) that produce no detrimental changes in their sensory and technological properties.

Sausages reformulated with these emulsion gels could be labelled with different nutrition and health claims depending on chia or oat incorporation. Both emulsion gels with chia and oat, entail a reduction in fat and energy content, and so these products could qualify for “reduced fat content” and “energy-reduced” claims and significantly improve fat content in line with nutritional recommendations, given their low levels of SFAs and high levels of MUFAs. These reformulation processes also improve on the recommendations for PUFA/SFA and n-6/n-3 PUFA ratios. In particular, sausages with chia emulsion gel have also significantly improved ALA content. Additionally, sausages reformulated with chia emulsion gel significantly improve amounts Ca and Mg concentrations, while samples with oat improve Fe and Mn contents. Amino acids such as aspartic acid, serine, glutamic acid and arginine increase in sausages containing chia emulsion gel, and serin, glutamic acid and methionine in samples containing oat emulsion gel.

These novel reformulation strategies also affect certain technological properties such as water- and fat- binding properties and texture depending on whether a chia or oat emulsion gel is used. The use of these fat replacers generally reduced cooking loss, while increasing hardness only in samples containing oat emulsion gel. Although these reformulation processes entailed changes in sensory characteristics of the products, they were judged to be acceptable and of adequate microbiological quality (day 0). Generally, chilled storage had little effect on the technological characteristics of the

sausages excepting textural alterations in terms of increased hardness in all samples, and the microbial count (TVC) was only significant affect by the use of CEG in the formulation after 13 days.

## Acknowledgments

The authors wish to thank MINECO, CAM and CSIC for financial support of this research, Projects AGL2014-53207-C2-1-R, S2013/AGR-2913 (MEDGAN), 2014470E073 and 201470E056.

## References

- Alejandre, M., Poyato, C., Ansorena, D., & Astiasarán, I. (2016). Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat Science*, 121, 107-113.
- Angiolillo, L., Conte, A., & del Nobile, M. A. (2015). Technological strategies to produce functional meat burgers. *Lwt-Food Science and Technology*, 62, 697-703.
- AOAC, 2005. Official method of analysis. *Association of Official Analytical Chemistry*, Maryland, USA.
- Arendt, E. K., & Zannini, E. (2013). Oats. In E. K. Arendt, & E. Zannini (Eds), *Cereal grains for the food and beverages industries* (pp: 243-238e). Cambridge: Woodhead Publishing.
- Ayerza, R., & Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*, 34, 1366-1371.
- Ayo, J., Carballo, J., Serrano, J., Olmedilla-Alonso, B., Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Effect of total replacement of pork backfat with walnut on the nutritional profile of frankfurters. *Meat Science*, 77, 173-181.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Bohm, N., & Kulicke, W. M. (1999). Rheological studies of barley (1 -> 3)(1 -> 4)-beta-glucan in concentrated solution: Mechanistic and kinetic investigation of the gel formation. *Carbohydrate Research*, 315, 302-311.

Brummer, Y., Defelice, C., Wu, Y., Kwong, M., Wood, P. J., & Tosh, S. M. (2014). Textural and rheological properties of oat beta-glucan gels with varying molecular weight composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 3160-3167.

Carballo, J., Mota, N., Barreto, G., & Colmenero, F. J. (1995). Binding-properties and color of bologna sausage made with varying fat levels, protein-levels and cooking temperatures. *Meat Science*, 41, 301-313.

Coorey, R., Tjoe, A., & Jayasena, V. (2014). Gelling properties of chia seed and flour. *Journal of Food Science*, 79, E859-E866.

Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Rodríguez-Salas, L., & Jiménez-Colmenero, F. (2011). A healthier oil combination and konjac gel as functional ingredients in low-fat pork liver pâté. *Meat Science*, 88, 241-248.

Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., & Jiménez-Colmenero, F. (2010). Healthier lipid combination oil-in-water emulsions prepared with various protein systems: an approach for development of functional meat products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 791-801.

Dias, C. B., Garg, R., Wood, L. G., & Garg, M. L. (2014). Saturated fat consumption may not be the main cause of increased blood lipid levels. *Medical Hypotheses*, 82, 187-195.

do Amaral, D. S., Cardelle-Cobas, A., do Nascimento, B. M. S., Monteiro, M. J., Madruga, M. S., & Pintado, M. M. E. (2015). Development of a low fat fresh pork sausage based on chitosan with health claims: Impact on the quality, functionality and shelf-life. *Food & Function*, 6, 2768-2778.

EFSA (2010). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *European Food Safety Agency Journal*, 1461-1568.

European Commission (EC) Regulation (EC) no 1924/2006 of the European Parliament and of the council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Official Journal of the European Union, European Commission*, pp: 3-18.

European Union (EU) (2011). Regulation (EU) No. 1169/2011 of the European Parliament and of the Council on the provision of food information to consumers. *Official Journal of the European Union, European Commission*, L 304, pp: 18-63.

European Union (EU) (2012). Commission Regulation (EU) no 432/2012 of the European Parliament and of the Council of 16 may 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods other than those referring to the reduction of



disease risk and to children's development and health. *Official Journal of the European Union, European Commission*, pp: 1-40.

Feldman, E. B. (2002). The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary heart disease. *Journal of Nutrition*, 132, 1062S-1101S.

Garg, M. L., Wood, L. G., Singh, H., & Moughan, P. J. (2006). Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. *Journal of Food Science*, 71, R66-R71.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S. A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, 76, 172-181.

Herrero, A. M., Carmona, P., Jimenez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2014). Polysaccharide gels as oil bulking agents: Technological and structural properties. *Food Hydrocolloids*, 36, 374-381.

Ixtaina, V. Y., Martinez, M. L., Spotorno, V., Mateo, C. M., Maestri, D. M., Diehl, B. W. K., Nolasco, S. M., & Tomas, M. C. (2011). Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 166-174.

Jiang, Z.-Q., Sontag-Strohm, T., Salovaara, H., Sibakov, J., Kanerva, P., & Loponen, J. (2015). Oat protein solubility and emulsion properties improved by enzymatic deamidation. *Journal of Cereal Science*, 64, 126-132.

Jimenez-Colmenero, F., Salcedo-Sandoval, L., Bou, R., Cofrades, S., Herrero, A. M., & Ruiz-Capillas, C. (2015). Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44, 177-188.

Kurowska, E. M. & Carroll, K. K. (1994). Hypercholesterolemic responses in rabbits to selected groups of dietary essential amino-acids. *Journal of Nutrition*, 124, 364-370.

Lee, M. R. F., Tweed, J. K. S., Kim, E. J., & Scollan, N. D. (2012). Beef, chicken and lamb fatty acid analysis - a simplified direct bimethylation procedure using freeze-dried material. *Meat Science*, 92, 863-866.

López-López, I., Cofrades, S., Yakan, A., Solas, M. T., & Jiménez-Colmenero, F. (2010). Frozen storage characteristics of low-salt and low-fat beef patties as affected by wakame addition and replacing pork backfat with olive oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 43, 1244-1254.

- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M. W., Bonham, M. P., & Fearon, A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84, 1-13.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2013). Tablas de composición de alimentos. Guía de prácticas. 16 Edn.: Pirámide.
- Nieto-Nieto, T. V., Wang, Y. X., Ozimek, L., & Chen, L. (2014). Effects of partial hydrolysis on structure and gelling properties of oat globular proteins. *Food Research International*, 55, 418-425.
- Olivos-Lugo, B. L., Valdivia-López, M. Á., & Tecante, A. (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica*, L.). *Food Science and Technology International*, 16, 89-96.
- Overholt, M. F., Mancini, S., Galloway, H. O., Preziuso, G., Dilger, A. C., & Boler, D. D. (2016). Effects of salt purity on lipid oxidation, sensory characteristics, and textural properties of fresh, ground pork patties. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 890-896.
- Pinero, M. P., Parra, K., Huerta-Leidenz, N., de Moreno, L. A., Ferrer, M., Araujo, S., & Barboza, Y. (2008). Effect of oat's soluble fibre (beta-glucan) as a fat replacer on physical, chemical, microbiological and sensory properties of low-fat beef patties. *Meat Science*, 80, 675-680.
- Pintado, T., Herrero, A. M., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2017). Emulsion gels as potential fat replacers delivering -glucan and healthy lipid content in meat products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (submitted).
- Pintado, T., Herrero, A. M., Jimenez-Colmenero, F. & Ruiz-Capillas, C. (2016). Strategies for incorporation of chia (*Salvia hispanica* L.) in frankfurters as a health-promoting ingredient. *Meat Science*, 114, 75-84.
- Pintado, T., Herrero, A. M., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Carmona, P., & Jimenez-Colmenero, F. (2015a). Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological, and structural properties of frankfurters. *Food Science and Technology International*, 22, 132-145.
- Pintado, T., Ruiz-Capillas, C., Jimenez-Colmenero, F., Carmona, P., & Herrero, A. M. (2015b). Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica*, L.) and cold gelling agents: Technological and infrared spectroscopic characterization. *Food Chem*, 185, 470-478.

- Poyato, C., Ansorena, D., Berasategi, I., Navarro-Blasco, I., & Astiasaran, I. (2014). Optimization of a gelled emulsion intended to supply omega-3 fatty acids into meat products by means of response surface methodology. *Meat Science*, 98, 615-621.
- Poyato, C., Astiasaran, I., Barriuso, B., & Ansorena, D. (2015). A new polyunsaturated gelled emulsion as replacer of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and sensory acceptability. *Lwt-Food Science and Technology*, 62, 1069-1075.
- Robbins, G. S., Pomeranz, Y. & Briggles, L. W. (1971). Amino acid composition of oat groats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 19, 536-&
- Ruiz-Capillas, C., Carmona, P., Jimenez-Colmenero, F., & Herrero, A. M. (2013). Oil bulking agents based on polysaccharide gels in meat batters: A raman spectroscopic study. *Food Chemistry*, 141, 3688-3694.
- Ruiz-Capillas, C., & Jimenez-Colmenero, F. (2010). Effect of an argon-containing packaging atmosphere on the quality of fresh pork sausages during refrigerated storage. *Food Control*, 21, 1331-1337.
- Scapin, G., Schimdt, M. M., Prestes, R. C., Ferreira, S., Silva, A. F. C., & Rosa, C. S. D. (2015). Effect of extract of chia seed (*Salvia hispanica*) as an antioxidant in fresh pork sausage. *International Food Research Journal*, 22, 1195-1202.
- Serrano, A., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2005). Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, 70, 647-654.
- Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233, 674-688.
- Souza, A. H. P., Gohara, A. K., Rotta, E. M., Chaves, M. A., Silva, C. M., Dias, L. F., Gomes, S. T. M., Souza, N. E., & Matsushita, M. (2015). Effect of the addition of chia's by-product on the composition of fatty acids in hamburgers through chemometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 928-935.
- Triki, M., Herrero, A. M., Jimenez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2013). Storage stability of low-fat sodium reduced fresh merguez sausage prepared with olive oil in konjac gel matrix. *Meat Science*, 94, 438-446.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., & Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66, 21-32.

572 Yilmaz, I., & Daglioglu, O. (2003). The effect of replacing fat with oat bran on fatty  
573 acid composition and physicochemical properties of meatballs. *Meat Science*, 65,  
574 819-823.  
575

Table 1. Formulation (%) of fresh sausages.

<b>Samples*</b>	<b>Meat</b>	<b>Pork back fat</b>	<b>CEG</b>	<b>OEG</b>	<b>Water</b>
<b>LNF/P</b>	60.0	29.0			7.0
<b>LRF/P</b>	60.0	7.25			28.75
<b>LRF/CEG</b>	60.0	3.0	27.0		6.0
<b>LRF/OEG</b>	60.0	3.0		27.0	6.0

Normal fat (LNF/P) and reduced-fat (LRF/P) fresh sausages (Longanize) formulated with pork backfat (P). Reduced-fat sausages reformulated by partially replacing pork backfat: with chia emulsion gel (CEG) denominated LRF/CEG and with oat emulsion gel (OEG) denominated LRF/OEG. All the samples contain 4% of commercial seasoning preparation for fresh sausages.

Table 2. Proximate analysis (%), energy value (kcal/100 g of product) and mineral content (mg/100 g product) of fresh sausages.

Parameters	Samples*			
	LNF/P	LRF/P	LRF/CEG	LRF/OEG
<b><i>Proximate analysis</i></b>				
Moisture	52.17±0.16 <sup>a</sup>	73.75±0.31 <sup>c</sup>	66.58±0.77 <sup>b</sup>	66.34±0.81 <sup>b</sup>
Protein	14.03±0.72 <sup>a</sup>	12.88±0.62 <sup>a</sup>	13.63±0.91 <sup>a</sup>	12.58±0.83 <sup>a</sup>
Fat	29.87±1.67 <sup>b</sup>	10.01±1.25 <sup>a</sup>	11.36±0.31 <sup>a</sup>	10.62±0.36 <sup>a</sup>
Total dietary fibre			1.63	2.38
Ash	2.85±0.18 <sup>a</sup>	2.71±0.04 <sup>a</sup>	3.17±0.07 <sup>a</sup>	3.58±0.71 <sup>a</sup>
<b><i>Energy value</i></b>				
	324.95	141.61	160.02	150.66
<b><i>Mineral content</i></b>				
Sodium	981±23.5 <sup>ab</sup>	963.7±19.5 <sup>a</sup>	1051.3±14.1 <sup>b</sup>	1040.8±21.0 <sup>b</sup>
Potassium	282.9±13.6 <sup>a</sup>	312.5±14.8 <sup>ab</sup>	343.7±16.9 <sup>b</sup>	322.9±8.3 <sup>ab</sup>
Magnesium	19.1±0.9 <sup>a</sup>	18.8±0.5 <sup>a</sup>	37.7±2.0 <sup>c</sup>	33.6±0.7 <sup>b</sup>
Calcium	6.8±0.6 <sup>a</sup>	7.6±0.3 <sup>a</sup>	112.9±1.5 <sup>c</sup>	80.9±1.8 <sup>b</sup>
Iron	0.54±0.0 <sup>a</sup>	0.58±0.1 <sup>a</sup>	1.02±0.1 <sup>b</sup>	1.22±0.0 <sup>c</sup>
Manganese	0.10±0.0 <sup>a</sup>	0.10±0.0 <sup>a</sup>	0.29±0.0 <sup>b</sup>	0.78±0.0 <sup>c</sup>
Zinc	1.20±0.0 <sup>a</sup>	1.33±0.0 <sup>a</sup>	1.69±0.1 <sup>b</sup>	1.74±0.1 <sup>b</sup>
Phosphorus	111.3±10.6 <sup>a</sup>	121.0±2.8 <sup>b</sup>	191.7±3.2 <sup>c</sup>	185.7±3.7 <sup>c</sup>

\*For samples denominations, see Table 1. Means ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ( $P<0.05$ ).

Table 3. Nutrition and health claims authorized in the reformulated fresh sausages with chia and oat emulsion gels as animal fat replacers according to Regulation (EC) N° 1924/2006 and Commission Regulation (EU) N° 432/2012. \* MUFA and PUFA: Monounsaturated and Polyunsaturated fatty acid.

Samples	Nutrition claims	Conditions applying to them	Health claims
LRF/P LRF/CEG LRF/OEG	High protein	Be made where at least 20 % of the energy value of the food is provided by protein.	Proteins contribute to: - a growth in muscle mass - the maintenance of muscle mass - the maintenance of normal bones Protein is needed for normal growth and development of bone in children.
LRF/P LRF/CEG LRF/OEG	Reduced fat	Be made where the reduction in content is at least 30 % compared to a similar product.	---
LRF/OEG	β-glucans	Be made for food which contains at least 1 g of beta-glucans from oats, oat bran, barley, barley bran, or from mixtures of these sources per quantified portion.	Beta-glucans contribute to the maintenance of normal blood cholesterol levels
LRF/P LRF/CEG LRF/OEG	Energy reduced	Be made where the energy value is reduced by at least 30 %.	---
LRF/OEG	Source of manganese	Be made where the product contains at least a significant amount as defined in the Annex to Directive 90/496/EEC (> 15 % of 2 mg)	Manganese contributes to: - normal energy-yielding metabolism - the maintenance of normal bones - the normal formation of connective tissue - the protection of cells from oxidative stress
LRF/CEG LRF/OEG	Source of zinc	Be made where the product contains at least a significant amount as defined in the Annex to Directive 90/496/EEC (> 15 % of 10 mg)	Zinc contributes to: - normal metabolism of carbohydrates, macronutrients, fatty acids, vit. A - normal acid-base metabolism - normal cognitive function, DNA synthesis, fertility and reproduction, protein synthesis, - maintenance of normal hair, bones, nails, skin, vision, testosterone levels in blood - the normal function of the immune system - the protection of cells from oxidative stress Zinc has a role in the process of cell division
LRF/CEG	High omega-3 fatty acids	Be made where the product contains at least 0.6 g alpha-linolenic acid (ALA) / 100 g of product and per 100 kcal	ALA contributes to the maintenance of normal blood cholesterol levels. Information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 2 g of ALA.
LRF/CEG LRF/OEG	High content unsaturated lipid	Be made where at least 70 % of the fatty acids present in the product derive from unsaturated fat under the condition that unsaturated fat provides more than 20 % of energy of the product.	Replacing saturated fats with unsaturated fats in the diet contributes to the maintenance of normal blood cholesterol levels [MUFA* and PUFA* are unsaturated fats]

Table 4. Fatty acid profile (g/100 g of product) and nutritional significance ratios of different fresh sausages.

<i>Parameters</i>	<b>Samples*</b>			
	<b>LNF/P</b>	<b>LRF/P</b>	<b>LRF/CEG</b>	<b>LRF/OEG</b>
<b>Myristic C14:0</b>	0.50±0.00 <sup>c</sup>	0.17±0.02 <sup>b</sup>	0.06±0.00 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>
<b>Palmitic C16:0</b>	7.68±0.11 <sup>c</sup>	2.62±0.26 <sup>b</sup>	1.87±0.09 <sup>a</sup>	1.93±0.13 <sup>a</sup>
<b>Stearic C18:0</b>	3.91±0.06 <sup>c</sup>	1.39±0.15 <sup>b</sup>	0.86±0.05 <sup>a</sup>	0.83±0.07 <sup>a</sup>
<b>Total SFA</b>	12.31	4.25	2.85	2.90
<b>Palmitoleic C16:1</b>	0.74±0.01 <sup>c</sup>	0.26±0.02 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>a</sup>	0.20±0.01 <sup>a</sup>
<b>Oleic C18:1n9</b>	12.65±0.17 <sup>c</sup>	4.39±0.42 <sup>a</sup>	5.20±0.20 <sup>b</sup>	5.59±0.31 <sup>b</sup>
<b>Vaccenic C 18:1 n7</b>	1.06±0.04 <sup>b</sup>	0.36±0.03 <sup>a</sup>	0.30±0.02 <sup>a</sup>	0.33±0.02 <sup>a</sup>
<b>Eicosenoic C20:1n9c</b>	0.32±0.01 <sup>c</sup>	0.11±0.01 <sup>b</sup>	0.07±0.00 <sup>a</sup>	0.07±0.00 <sup>a</sup>
<b>Total MUFA</b>	14.77	5.12	5.73	6.18
<b>Linoleic C18:2n6</b>	2.04±0.02 <sup>c</sup>	0.82±0.09 <sup>a</sup>	1.25±0.05 <sup>b</sup>	1.10±0.08 <sup>b</sup>
<b>Linolenic C18:3n3</b>	0.13±0.00 <sup>b</sup>	0.05±0.01 <sup>a</sup>	1.08±0.02 <sup>c</sup>	0.06±0.00 <sup>a</sup>
<b>Total PUFA</b>	2.41	0.98	2.42	1.25
<b>PUFA/SFA</b>	0.20	0.23	0.85	0.43
<b>n-6/n-3</b>	17.04	19.03	1.21	18.53

\* For samples denominations, see Table 1. Means ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). SFA: Saturated fatty acid. MUFA: Monounsaturated fatty acid. PUFA: Polyunsaturated fatty acid.



Table 5.- Kramer shear force (KSF) (N/g) of fresh sausages during chilled storage.

Samples*	Days of storage ( $4 \pm 2$ °C)				
	0	4	7	13	18
<b>LNF/P</b>	1.30±0.12 <sup>b12</sup>	1.47±0.03 <sup>b12</sup>	1.44±0.15 <sup>b2</sup>	1.51±0.14 <sup>b2</sup>	1.20±0.06 <sup>b1</sup>
<b>LRF/P</b>	1.02±0.06 <sup>a1</sup>	1.01±0.11 <sup>a1</sup>	1.13±0.12 <sup>a1</sup>	1.04±0.12 <sup>a1</sup>	1.34±0.14 <sup>b2</sup>
<b>LRF/CEG</b>	0.84±0.04 <sup>a1</sup>	0.88±0.11 <sup>a1</sup>	0.86±0.08 <sup>a1</sup>	1.07±0.13 <sup>a2</sup>	0.88±0.10 <sup>a12</sup>
<b>LRF/OEG</b>	1.27±0.12 <sup>b1</sup>	1.27±0.11 <sup>b1</sup>	1.33±0.08 <sup>b12</sup>	1.51±0.16 <sup>b23</sup>	1.57±0.09 <sup>c3</sup>

\* For samples denominations see Table 1. Means  $\pm$  standard deviation. Different letters in the same column for each parameter evaluated and different numbers in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

### **Figure Captions**

Fig. 1. Cooking loss (%) [TFR (total fluid release); FR (fat release) and WR (water release)] and pH. For samples denominations see Table 1. LRF/OEG registered no cooking loss values.

Fig. 2. Sensory evaluation of fresh sausages. For samples denominations see Table 1.

**Figure 1**

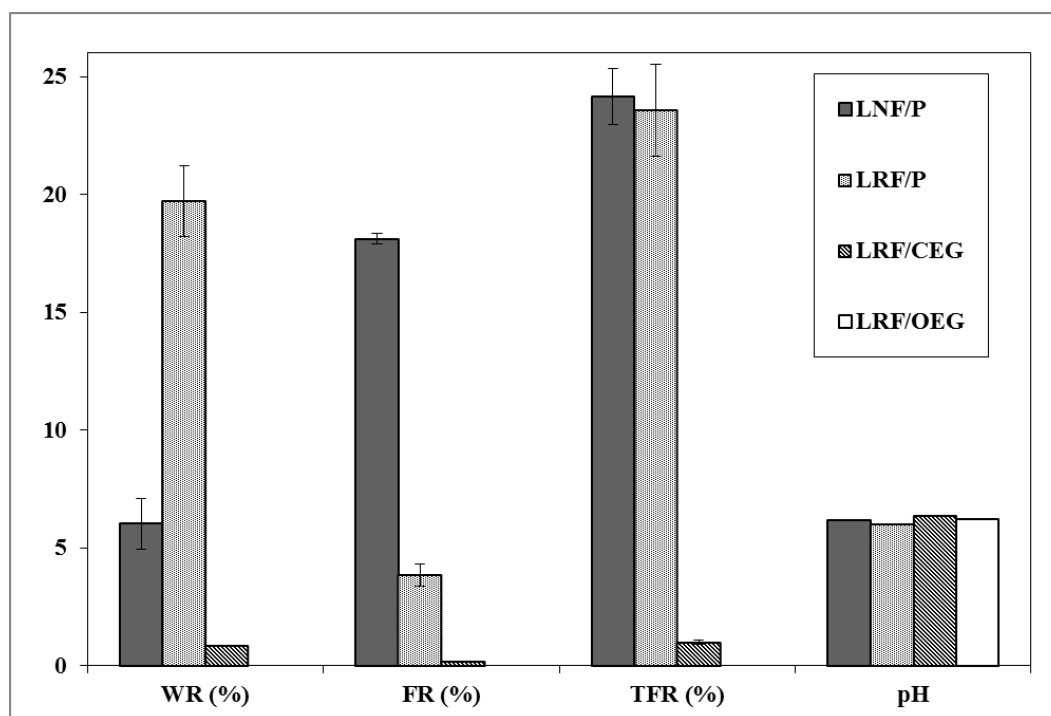
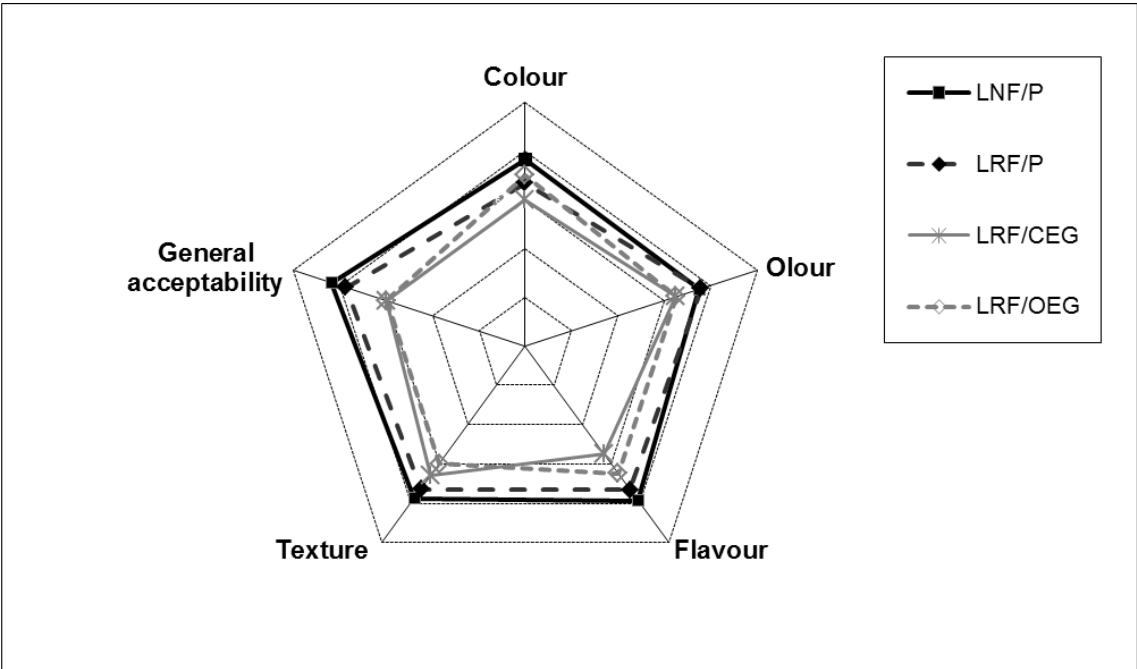


Figure 2.



**Highlights**

- Chia and oat emulsion gels (EG) were used as fat replacers in reduced-fat sausages
- Chia and oat EG improved fat, minerals and amino acid contents of sausages
- Technological properties such as cooking loss and texture were influenced by EG
- EG affected sensory properties but sausages were judged acceptable
- Generally, chilled storage had little effect on technological characteristics sausages

## **5. DISCUSIÓN INTEGRADORA**



## 5. DISCUSIÓN INTEGRADORA

Los lípidos son uno de los constituyentes de los alimentos a los que mayor atención se ha prestado en los últimos tiempos por su asociación con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECV, cáncer, etc.), primera causa de mortalidad a nivel mundial (WHO/FAO, 2003). Debido a que la carne y sus derivados son una de las principales fuentes de ingesta de grasa, la industria cárnica ha dedicado numerosos esfuerzos a fin de modificar su contenido, tanto a nivel cuantitativo como cualitativo en relación a su perfil de ácidos grasos. Para ello se han ensayado diversas estrategias de reformulación basadas en la sustitución de la grasa animal habitualmente empleada, por aceites vegetales y/o marinos, y/o ingredientes que los contengan (Jiménez-Colmenero, 2007).

En este contexto, adquiere especial relevancia el desarrollo de procedimientos encaminados a obtener un material lipídico con una estructura sólida, similar a la de la grasa animal y con un perfil de ácidos grasos en línea con las recomendaciones de salud (FAO, 2012; WHO/FAO, 2003). A tal efecto, en los últimos años se han ensayado diversas opciones, entre ellas, el empleo de **emulsiones estructuradas (hidrogelificadas)** dado que presentan interesantes posibilidades por su apropiada composición, estructura y aptitud tecnológica (Jiménez-Colmenero, et al., 2015). Las emulsiones gelificadas (EG) pueden ser formuladas con distintos ingredientes que, además de mejorar algunos aspectos tecnológicos (capacidad emulsionante y gelificante), contengan compuestos con actividad biológica beneficiosa para la salud como es el caso de la chía y avena. De esta forma, además se dota a este tipo de material lipídico de un valor adicional al posibilitar que el producto final pueda presentar diversas declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en el marco de la legislación europea según los Reglamentos (CE) nº 1924/2006; 432/2012 (Comisión Europea, 2006, 2012a).

Por todo esto, y a fin de abordar el objetivo general de la presente memoria, centrado en estudiar diferentes aspectos relacionados con el **diseño y desarrollo de nuevas estrategias de reformulación basadas en la sustitución de la grasa animal por emulsiones estructuradas (gelificadas) como vehículo de diversos compuestos con implicaciones beneficiosas para la salud, para su aplicación en la preparación de productos cárnicos más saludables y funcionales**, en primer lugar se llevó a cabo el diseño, desarrollo y caracterización, a nivel de composición y de propiedades



tecnológicas, de diversas emulsiones gelificadas. Tales emulsiones, formuladas para exhibir características similares a las de la grasa animal, han de ser capaces de estabilizar diversas cantidades de aceite de oliva y proporcionar ciertos compuestos bioactivos (AGM, AGP, fibra dietética, minerales, etc.) a los derivados cárnicos en los que se incorporen como sustitutos de grasa animal. Para tal fin, se evaluaron las posibilidades que ofrecían algunos ingredientes utilizados habitualmente (caseinato, aislado de proteína de soja, etc.), así como otros ingredientes de origen vegetal más novedosos (chía o avena), dotados de interesantes propiedades tecnológicas (emulsionantes, gelificantes, etc.) y además con determinados nutrientes con actividad biológica relacionada con beneficios para la salud. Se emplearon también diferentes tipos de agentes gelificantes, transglutaminasa microbiana (MTG), alginato y gelatina. El uso de estos agentes capaces de gelificar en frío, resultó una elección con enorme potencial para la formación de una red tridimensional que desempeña un papel relevante en las propiedades tecnológicas de las EG.

En una segunda fase, y una vez caracterizadas las EG, se seleccionaron aquellas que por sus propiedades nutricionales y tecnológicas se ajustaban más a las necesidades de reformulación de los elaborados cárnicos más saludables. Se estudió el efecto derivado de la sustitución de grasa animal por estas EG en varios productos seleccionados en base a su nivel de consumo, relevancia económica y adecuada susceptibilidad para ser reformulados: **salchichas tipo frankfurt** (producto tratado por calor) y **salchichas tipo longaniza** (producto fresco).

Con el propósito de analizar los resultados desde un punto de vista diferente al plasmado en los artículos publicados incluidos en la presente memoria (**Capítulo 4**), a continuación se plantea un análisis global de los mismos incidiendo tanto en las EG por su particular interés y relevancia (**Capítulo 5.1**), como en su aplicación en los productos cárnicos seleccionados (**Capítulo 5.2**).

## **5.1 EMULSIONES GELIFICADAS**

### **5.1.1 Consideraciones sobre su formulación y desarrollo**

Las emulsiones estructuradas (gelificadas), se han establecido como una novedosa estrategia para obtener sustitutos de grasa animal, pudiendo además vehicular ciertos compuestos bioactivos (ácidos grasos insaturados, fibra, minerales, etc.) (Jiménez-Colmenero, et al., 2015).

Un primer aspecto a considerar en el diseño fue su composición, establecida para dotar a los productos en los que se incorporen de compuestos que permitan realizar determinadas alegaciones nutricionales y de propiedades saludables según los Reglamentos (CE) n° 1924/2006 y 432/2012 (Comisión Europea, 2006, 2012a). Un segundo elemento a tener en cuenta fue el relacionado con sus propiedades tecnológicas, encaminadas a disponer de EG con características físico-químicas apropiadas para su empleo en los procesos de reformulación de los derivados cárnicos. Para ello, se evaluaron diferentes ingredientes, algunos habituales [aislado de proteína de soja (SPI), caseinato sódico (SC), etc.] y otros más novedosos. Entre éstos se encuentran la semilla o harina de chía y el salvado de avena, que por su elevada concentración proteica, tienen un papel decisivo en la formación y estabilización de emulsiones (Arendt, 2013; EFSA, 2009; Ixtaina, 2010; USDA, 2016). Ambos ingredientes contienen proteínas que presentan interesantes propiedades emulsionantes y gelificantes (Coorey, et al., 2014; Goh, et al., 2016; Nieto-Nieto, et al., 2014, 2015; Olivos-Lugo, et al., 2010; Zhang, et al., 2015). Además, otros de sus componentes, fundamentalmente la fracción de fibra de la harina o semilla de chía y los  $\beta$ -glucanos (fibra soluble) de la avena, también contribuyen a la estabilidad de la emulsión (Ávila-de la Rosa, et al., 2015; Brummer, et al., 2014; Lazaridou y Biliaderis, 2007). Teniendo en cuenta lo anterior, se formularon diversas EG con chía (harina o semilla) o avena capaces de estabilizar proporciones convenientes de aceite de oliva (Tabla 5.1).

Para favorecer el proceso de gelificación de las emulsiones se consideró interesante evaluar las posibilidades que ofrecía la utilización de diversos gelificantes capaces de actuar a bajas temperaturas como MTG, alginato y gelatina. Estos gelificantes permiten la formación en frío de una estructura de gel que consiste básicamente en una red tridimensional que aporta rigidez y elasticidad al sistema (Dickinson y Yamamoto, 1996; Roopa y Bhattacharya, 2010; Sala, et al., 2009).

Con el fin de optimizar su contenido lipídico se eligió aceite de oliva por ser fuente de AGM (79 %, oleico principalmente), vitaminas liposolubles (vitamina E) y otros compuestos con capacidad antioxidante como carotenoides, polifenoles (hidroxitirosol), etc. (Borges, et al., 2017; Sánchez-Muniz, 2007). Además, se considera la principal fuente lipídica de la “Dieta Mediterránea”, patrón alimentario característico de nuestra zona (Sánchez-Muniz, 2007).

**Tabla 5.1.** Formulación (%) de las diferentes emulsiones gelificadas (EG).

	Denominación de EG	Fase lipídica: aceite de oliva	Ingredientes vegetales			Agentes gelificantes			Agua
			SPI	Chía		Avena	MTG	Alginato	Gelatina
				Semilla	Harina				
<b>SPI<sup>1</sup></b>	O/SPI+SC+MTG	52,0	5,2				1,3		41,6
<b>Chía</b>	CST <sup>2</sup>	52,0		5,0			2,0		41,0
	CSA <sup>2</sup>	52,0		5,0				2,0	41,0
	CSG <sup>2</sup>	52,0		5,0					2,0
	CFT <sup>2</sup>	52,0			5,0		2,0		41,0
	CFA <sup>2</sup>	52,0			5,0			2,0	41,0
	CFG <sup>2</sup>	52,0			5,0				2,0
	CEGA <sup>3</sup>	16,8			25,8			2,0	55,4
	CEG <sup>4</sup>	20,0			20,0			2,0	58,0
<b>Avena<sup>5</sup></b>	OEA 12/40	40,0				12,0		2,0	46,0
	OEG 12/40	40,0				12,0			2,0
	OEA 20/20	20,0				20,0		2,0	58,0
	OEG 20/20	20,0				20,0			2,0
	OEA 26/5	5,0				26,0		2,0	67,0
	OEG 26/5	5,0				26,0			2,0

<sup>1</sup> EG formulada con aislado de proteína de soja (SPI), caseinato sódico (SC) y transglutaminasa microbiana (MTG) (**Capítulo4.1**); <sup>2</sup> EG preparadas con semilla (CS) o harina (CF) de chía y transglutaminasa microbiana (T), alginato (A) o gelatina (G) (**Capítulo4.2**); <sup>3</sup> EG de harina de chía con alginato (**Capítulo4.5**); <sup>4</sup> EG de harina de chía con alginato (**Capítulo4.6**); <sup>5</sup> EG elaboradas con avena (OE) y alginato (A) o gelatina (G) formuladas con diferentes proporciones de avena/aceite (%) (**Capítulo4.3**).

En base a estas consideraciones, se desarrollaron diferentes estrategias para llevar a cabo la formulación de EG con diferente composición y propiedades tecnológicas (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**). Se trata de disponer de un amplio abanico de posibilidades en la elección de sustitutos de grasa para la reformulación de distintos productos cárnicos, en función de las características (nutricionales, tecnológicas, sensoriales y microbiológicas) que se puedan conferir al producto final en el que se incorporen.

En este sentido, y de acuerdo a los objetivos planteados, en primer lugar se efectuaron estudios encaminados a alcanzar la estabilización de una elevada concentración de aceite de oliva (52 %) en emulsiones gelificadas y convencionales (utilizadas como referencia), empleando como surfactantes hidrofílicos fuentes proteicas tales como SPI, SC, etc. (~5 %) acompañado a su vez de un agente gelificante, MTG (Tabla 5.1) (**Capítulo 4.1**).

A fin de ampliar las posibilidades se desarrollaron estrategias para estabilizar cantidades similares de aceite empleando ingredientes vegetales más novedosos y menos explorados para tal fin como la chía y avena (**Capítulos 4.2 y 4.3**). Primeramente se evaluaron las posibilidades que ofrecían niveles totales (5 %) de harina de chía (CF) o semilla (CS) similares a los empleados con las fuentes proteicas descritas anteriormente, combinados con diversos agentes gelificantes como MTG (T), alginato (A) y gelatina (G) (**Capítulo 4.2**). De forma adicional, se analizó la posibilidad de aumentar la concentración de chía con el objetivo de potenciar la presencia de sus compuestos con efectos beneficiosos para la salud (AGP, fibra, minerales, etc.). En tal sentido, se desarrollaron EG con niveles de chía de 20 % (CEG, **Capítulo 4.6**) y 25,8 % (CEGA, **Capítulo 4.5**) limitando por razones tecnológicas la presencia de aceite de oliva (16,8 - 20 %) (Tabla 5.1).

Se desarrollaron además emulsiones formuladas con diversas combinaciones de avena/aceite (OE) (comprendidas entre 12/40 y 26/5), elaboradas con alginato (OEA) o gelatina (OEG) o sin adición de agentes gelificantes (OEW) (**Capítulo 4.3**). En la tabla 5.1 se muestran las EG de avena más relevantes desde un punto de vista tecnológico y de composición.

Los agentes gelificantes (MTG, alginato y gelatina) y las condiciones de aplicación fueron seleccionados en base a estudios previos (Delgado-Pando, et al., 2010b; Herrero, et al., 2014a; Roopa y Bhattacharya, 2010; Sato, et al., 2014).

A continuación se realiza un análisis de las características más destacadas de las EG, centrado en aspectos nutricionales y en sus propiedades tecnológicas incluyendo el efecto de la conservación en refrigeración y congelación.

### 5.1.2 Aspectos nutricionales.

Dado que las EG se idearon como ingredientes a incorporar como sustituto de grasa en productos cárnicos, resulta esencial analizar detenidamente su composición (Tabla 5.2).

Su **contenido proteico** fue relativamente reducido ya que en ningún caso superó el 7 % (Tabla 5.2). No obstante, cabe destacar la presencia de aminoácidos esenciales (histidina, arginina, lisina o treonina) procedentes de la proteína de soja, chía y avena (Chen, et al., 1998; Klose y Arendt, 2012; Olivos-Lugo, et al., 2010). Un aspecto destacable en las EG de chía y avena es la posibilidad de ser utilizados en productos aptos en dietas para celíacos debido a que en general, la semilla de chía y la avena no contiene gluten (Ixtaina, 2010; Janatuinen, et al., 2002; Janatuinen, et al., 1995; Malalgoda y Simsek, 2017; Storsrud, et al., 2003; Ullah, et al., 2016).

**Tabla 5.2.** Composición (%) y valor energético (kcal/100 g) de diversas EG\* y de tocino de cerdo.

	Material lipídico	Proteína	Grasa	Fibra dietética		Valor energético
				Insoluble	Soluble (β-glucanos)	
<b>SPI</b>	<b>O/SPI+SC+MTG (Capítulo4.1)</b>	4,8	52			487
<b>Chía</b>	<b>CST; CSA; CSG (Capítulo4.2)</b>	0,6-2,0	53-55	1,5		497-505
	<b>CFT; CFA; CFG (Capítulo4.2)</b>	0,7-2,0	53-54	1,5		497-505
	<b>CEGA (Capítulo4.5)</b>	5,7	25	7,6		268
	<b>CEG (Capítulo4.6)</b>	4,4	26	5,9		270
	<b>OE (OEA y OEG 12/40) (Capítulo4.3)</b>	2,4-4,1	40		2,6	386
<b>Avena</b>	<b>OE (OEA y OEG 20/20) (Capítulo4.3)</b>	4,0-5,7	21		4,4	224
	<b>OE (OEA y OEG 26/5) (Capítulo4.3)</b>	5,2-6,9	6,2		5,7	102
	<b>Tocino<sup>1</sup></b>	8,4	71			673

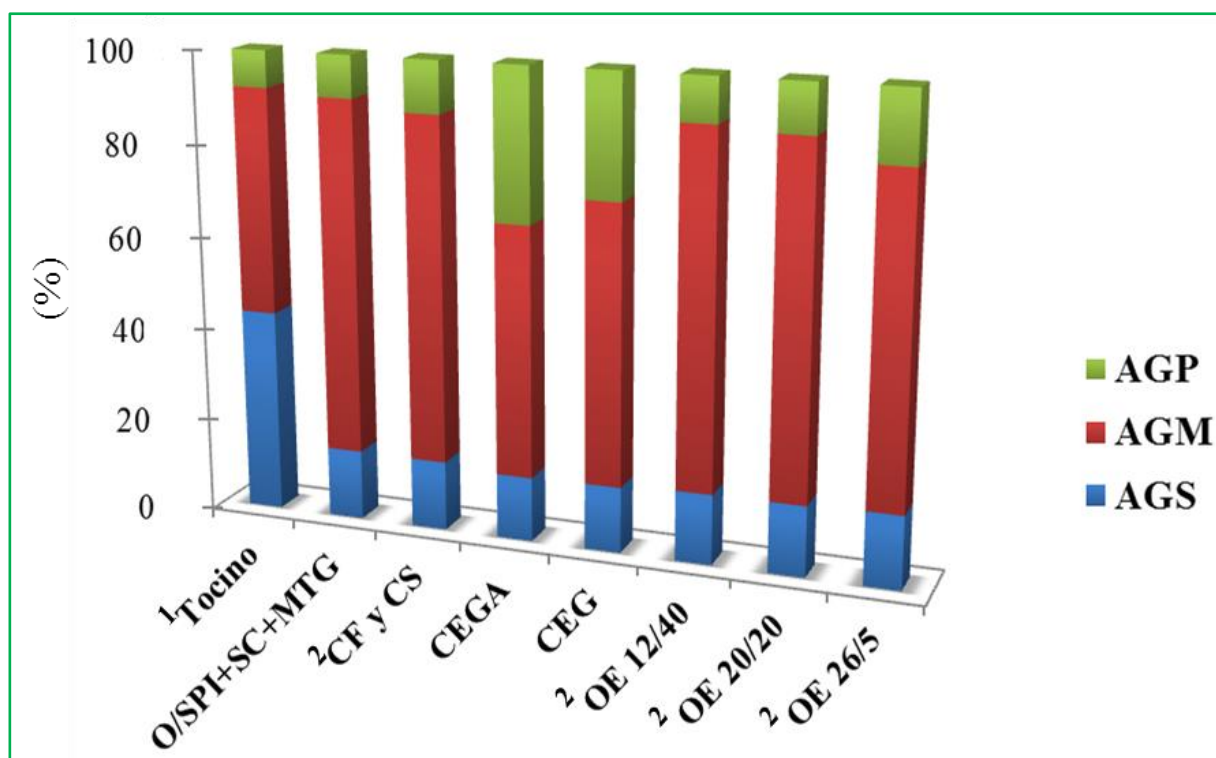
\*La denominación y formulación de las distintas EG se describe en la tabla 5.1, tal y como aparecen en los capítulos correspondientes. Valores estimados en base a la formulación.

<sup>1</sup>Composición de tocino (Moreiras, et al., 2013), utilizado como referencia.

El nivel de **grasa** de las EG, comprendido en el intervalo 6,2 - 55 % (Tabla 5.2), es de origen vegetal, fundamentalmente proviene del aceite de oliva y en menor proporción de

la chía y avena. En comparación con el tocino (Jiménez-Colmenero, et al., 2012; Moreiras, et al., 2013), estas EG presentaron niveles entre un 22 y 91 % inferiores.

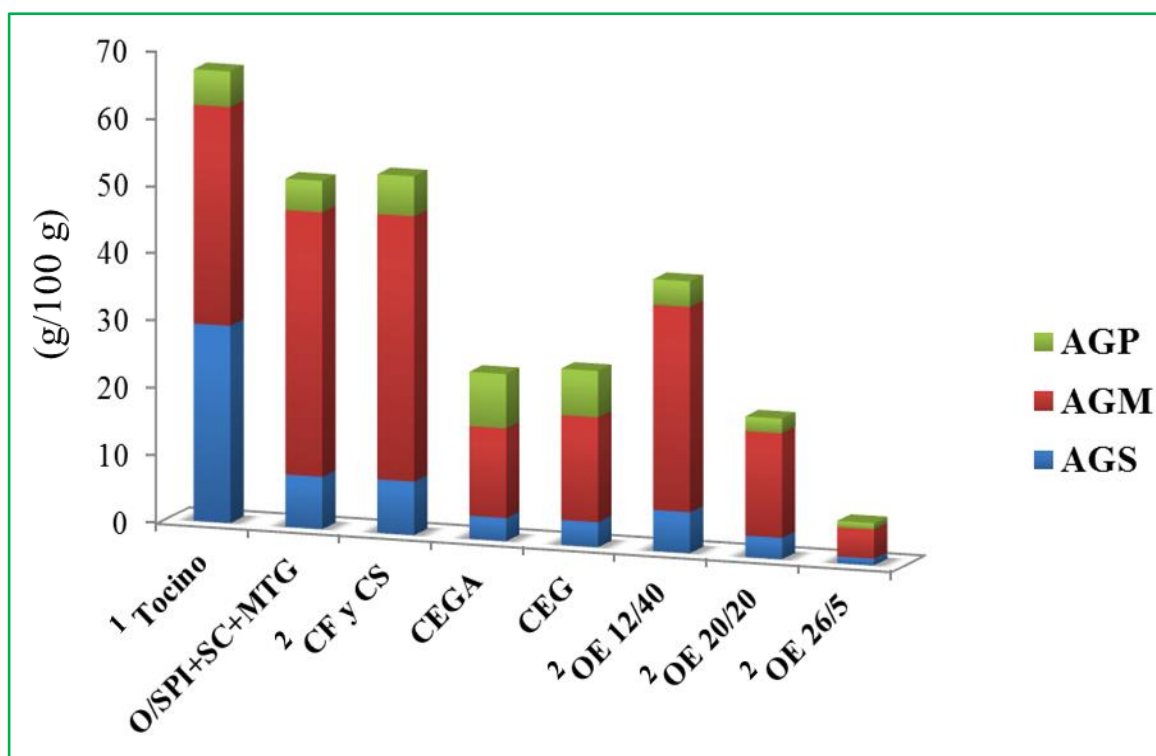
El **perfil lipídico** de las EG fue significativamente mejorado en comparación con el tocino (Figuras 5.1 y 5.2). Presentaron mayor porcentaje de AGM y AGP y menor de AGS (Figura 5.1). Evidentemente, el perfil correspondió básicamente al del aceite de oliva (constituyente lipídico mayoritario en las emulsiones), cuya proporción de AGS, AGM y AGP es 1,7:8,4:1,0 (Delgado-Pando, et al., 2010b). No obstante, aquellas emulsiones con mayor contenido de chía, CEGA (25,84 % de chía) y CEG (20 % de chía) (Capítulos 4.5 y 4.6, respectivamente) presentaron mayor proporción de AGP [principalmente ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA)], como corresponde a la elevada cantidad de este tipo de ácidos grasos en chía (~20 g ALA/100 g de semilla) (Ixtaina, 2010).



**Figura 5.1.** Proporción (%) de AGS, AGM y AGP presentes en la fracción lipídica de tocino y EG (valores estimados en base a la formulación). La denominación y formulación de las distintas EG se describe en la tabla 5.1. <sup>1</sup> Composición de tocino (Moreiras, et al., 2013), utilizado como referencia. <sup>2</sup> Los datos correspondientes a las EG de chía [CF y CS (Capítulo 4.2)] y avena [(OE 12/40, OE 20/20 y OE 26/5) (Capítulo 4.3)] se analizaron de forma conjunta, independientemente del agente gelificante empleado, dado que fueron formuladas con la misma cantidad y tipo de fuente lipídica.

La presencia de AGS en las EG fue inferior a 10 g/100 g de muestra, aproximadamente un tercio de lo que contiene el tocino (30 g/100 g de EG) (Figura 5.2). Naturalmente, aquellas EG preparadas con mayor cantidad de aceite de oliva (52 %) (Tabla

5.1) fueron las que poseían niveles de AGM más elevados. En este sentido, tanto las formuladas con soja (O/SPI+SC+MTG) como con harina de chía (CF) o semilla de chía (CS) presentaron aproximadamente 38 g de AGM/100 g (Figura 5.2), de los cuales prácticamente el total era ácido oleico. El contenido de AGP (ALA, principalmente) fue relevante en emulsiones elaboradas con harina o semilla de chía (CF y CS) (Figura 5.2). En tal sentido, la cantidad de ALA en EG formuladas con un 5 % de chía (CF y CS) fue de 0,97 g ALA /100 g (**Capítulo 4.2**). EG con mayor contenido de chía presentaron concentraciones de 3,8 g y 4,9 g ALA/100 g en muestras CEG (**Capítulo 4.6**) y CEGA (**Capítulo 4.5**), respectivamente. La presencia de estas emulsiones en derivados cárnicos podría, por lo tanto, ayudar a cubrir las recomendaciones dietéticas de AGP omega-3, estimadas en 1,4 - 3 g/día (EFSA, 2005, 2010b).



**Figura 5.2.** Cantidad (g/100 g de EG) de ácidos grasos en tocino y EG (valores estimados en base a la formulación). La denominación y formulación de las distintas EG se describe en la tabla 5.1. <sup>1</sup> Composición de tocino (Moreiras, et al., 2013), utilizado como referencia.

<sup>2</sup> Los datos correspondientes a las EG de chía [CF y CS (**Capítulo 4.2**)] y avena [(OE 12/40, OE 20/20 y OE 26/5) (**Capítulo 4.3**)] se analizaron de forma conjunta, independientemente del agente gelificante empleado, dado que fueron formuladas con la misma cantidad y tipo de fuente lipídica.

La **fibra dietética**, tanto insoluble (principalmente en emulsiones con chía) como soluble ( $\beta$ -glucanos) en emulsiones con avena, es otro de los compuestos que cobra especial relevancia en este tipo de material lipídico. En este sentido, en EG con chía (harina o

semilla) los valores de fibra insoluble se encontraron en el intervalo 1,5 - 7,6 % (Tabla 5.2), en consonancia con su alto porcentaje (~30 %) en chía (EFSA, 2009; Ixtaina, 2010; USDA, 2016). La fibra dietética aportada por la avena se caracterizó por el elevado contenido (2,6 - 5,7 %) de  $\beta$ -glucanos (Tabla 5.2), que son homopolisacáridos a los que se les han atribuido numerosos beneficios para la salud (Wood, et al., 1994). Teniendo en cuenta que el consumo de fibra en occidente está por debajo de las recomendaciones establecidas (FEN, 2012), la inclusión de EG formuladas con chía o avena en nuestra dieta podría ayudar a paliar este déficit.

El **valor energético** de las EG, que fue significativamente inferior al del tocino, osciló entre ~100 - 500 kcal/100 g (Tabla 5.2) dependiendo del contenido de aceite de oliva (Tabla 5.1) (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**).

Las EG contienen además cantidades relevantes de otros elementos con interés para la salud humana. Entre ellos cabe destacar la presencia de **minerales** tales como el Ca, Fe o Mg en aquellas formuladas con chía (harina o semilla) o Mg y Mn en las elaboradas con avena. De forma adicional contienen otros componentes propios de chía o avena tales como **antioxidantes** o **vitaminas** (Arendt, 2013; Ixtaina, 2010).

En base a lo expuesto, se podría afirmar que estas EG ofrecen interesantes expectativas en la reformulación de productos cárnicos saludables y funcionales atendiendo a su contenido lipídico, de fibra, minerales y/o valor energético puesto que podrían dotarlos de declaraciones nutricionales y de propiedades saludables según los Reglamentos (CE) n° 1924/2006 y 432/2012 (Comisión Europea, 2006, 2012a).

### **5.1.3 Aspectos tecnológicos**

Especial atención requiere evaluar las propiedades tecnológicas (propiedades ligantes de agua y grasa, pH, color, textura, etc.) de las EG puesto que, al ser posteriormente incorporadas como ingredientes en productos cárnicos, van a condicionar sus atributos de calidad. Además resulta necesario estimar los efectos derivados de su conservación en refrigeración (**Capítulos 4.2 y 4.3**) y congelación (**Capítulo 4.3**), tratamientos habitualmente utilizados en este tipo de alimentos.

Las EG son matrices sólidas con características similares a las de la grasa animal, lo que permitiría su manipulación (troceado, picado, mezclado, etc.) (Figura 5.3) de forma análoga así como su posterior utilización en la elaboración de derivados cárnicos.





**Figura 5.3.** EG de avena elaboradas con diferentes proporciones (%) de avena/aceite de oliva [12/40 (1) y 26/5 (2)] y alginato como agente gelificante (**Capítulo 4.3**).

En general, las EG estudiadas presentan buenas **propiedades ligantes de agua y grasa** durante tratamientos térmicos (70 °C, 30 min) (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**) ya que en la mayoría de los casos las pérdidas por cocción eran inapreciables. Sólo aquellas emulsiones formuladas con avena y un porcentaje de aceite de oliva superior al 20 % (que conlleva una reducción del contenido de avena) presentaron algunas pérdidas (2 - 7 %), de las cuales el 94 - 99,8 % fueron de grasa (**Capítulo 4.3**). Tal comportamiento podría relacionarse con la existencia de una menor cantidad de proteína en el sistema, que implica menor ratio proteína/aceite para estabilizar el sistema, y en consecuencia la formación de estructuras menos estables y rígidas con menor capacidad para ligar agua y grasa. Por otro lado, el buen comportamiento descrito para la mayoría de las EG puede deberse tanto a la acción de ciertos componentes presentes en chíá y avena como a la contribución de los agentes gelificantes (Brummer, et al., 2014; Butt, et al., 2008; Coorey, et al., 2014; Lazaridou y Biliaderis, 2007; Olivos-Lugo, et al., 2010; Valdivia-López y Tecante, 2015). Otros autores observaron un comportamiento similar en emulsiones de soja y caseinato con MTG (Delgado-Pando, et al., 2010b) así como en otro tipo de materiales lipídicos, caso de los agentes de carga de aceite (Herrero, et al., 2014a).

Generalmente, los valores de **pH** de las EG (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**) estuvieron próximos a los descritos para la grasa animal (aprox. 6,7) (Jiménez-Colmenero, et al., 2012)

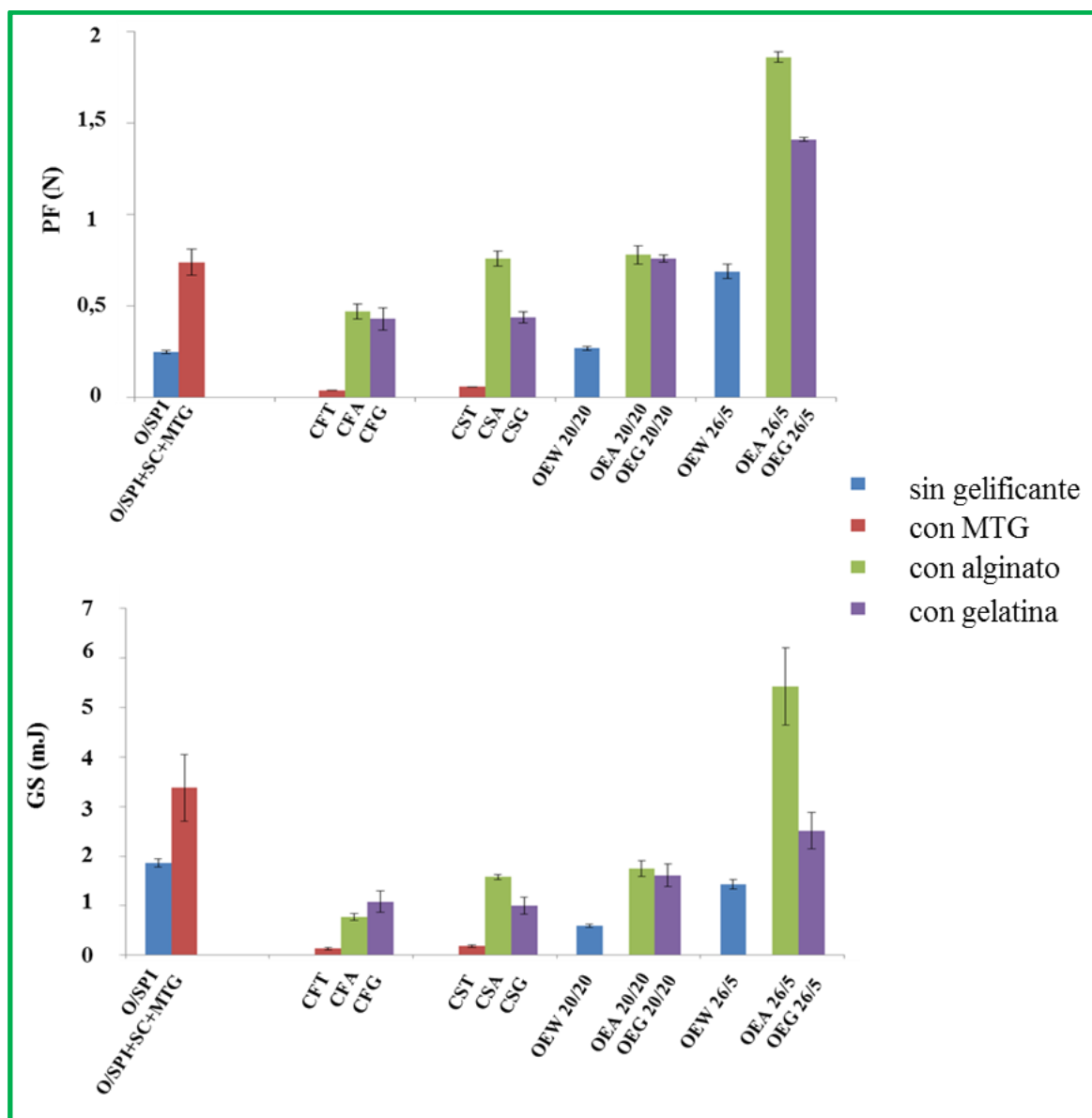
y por lo tanto no presentan limitaciones para ser empleadas como un ingrediente más en la formulación de derivados cárnicos.

El **color** de las EG es un atributo importante puesto que podría alterar el aspecto final de aquellos derivados cárnicos en los que se adicionen, incidiendo en la percepción que tenga el consumidor de los mismos. Los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) en las EG estuvieron condicionados por su formulación, principalmente como consecuencia del color característico del SPI (**Capítulo 4.1**), chía (harina o semilla) (**Capítulo 4.2**) o avena (**Capítulo 4.3**). De forma adicional se observaron diferencias en los valores de luminosidad según el gelificante empleado. En tal sentido, emulsiones formuladas con harina o semilla de chía (5 %) gelificadas con alginato (CFA y CSA, Tabla 5.1) presentaron mayor ( $P < 0,05$ ) luminosidad ( $L^*$ ) que aquellas formuladas con MTG (CFT y CST, Tabla 5.1) o gelatina (CFG y CSG, Tabla 5.1). Por otro lado, aquellas que contenían gelatina presentaron los valores más bajos ( $P < 0,05$ ) de tendencia al rojo (**Capítulo 4.2**). En las EG de avena las diferencias más relevantes encontradas fueron debidas a su proporción de avena/aceite. Así, la tendencia al rojo era mayor en emulsiones con mayor proporción de avena, que parece podría atribuirse a la alta concentración de  $\beta$ -glucanos (Lazaridou y Biliaderis, 2007). Por otro lado, concentraciones mayores de aceite provocaron mayor tendencia al amarillo, fenómeno que podría atribuirse al color característico del aceite de oliva (Borges, et al., 2017). En general, las EG presentaron valores de luminosidad próximos a los descritos para la grasa animal (Jiménez-Colmenero, et al., 2012). Sin embargo, los valores de tendencia al rojo fueron menores y los de tendencia al amarillo superiores, probablemente estos últimos atribuidos a la presencia de aceite de oliva como ya se ha descrito.

Los **parámetros texturales** de las EG proporcionan información relevante a la hora de establecer criterios tecnológicos en la elección de la más idónea para impartir los atributos característicos del producto cárnico en el que se incorporen. En general, en todas las EG se observó un comportamiento textural característico de una estructura de gel, aunque los parámetros de textura evaluados, fuerza de penetración (PF) y resistencia del gel (GS), variaron en función de su formulación (Figura 5.4) (**Capítulos 4.1, 4.2 y 4.3**). Factores asociados a la presencia de emulsionante, gelificante y porcentaje de aceite parecen condicionar sus propiedades mecánicas (Figura 5.4).

El contenido de proteína (Tabla 5.2) influyó significativamente en los atributos de textura de las EG (Figura 5.4), observándose una correlación positiva entre éste y los valores de PF ( $R=0,63$ ;  $P < 0,05$ ) y GS ( $R=0,63$ ;  $P < 0,05$ ). Así por ejemplo, para una misma concentración de aceite (52 %), EG con SPI y MTG presentaron valores de PF y GS

mayores que EG elaboradas con chía (harina y semilla) y MTG (Figura 5.4). Tales diferencias podrían atribuirse a que las primeras (O/SPI+SC+MTG) tienen mayor contenido proteico (4,8 %, Tabla 5.2) que las segundas (CF y CS) (0,6 - 0,7 %, Tabla 5.2), dado que tanto la proteína de la soja como la de la chía presentan propiedades tecnológicas semejantes (capacidad emulsionante, gelificante, etc.) (Kinsella, 1979; Olivos-Lugo, et al., 2010).



**Figura 5.4.** Parámetros de textura [fuerza de penetración (PF) y resistencia del gel (GS)] de las EG. La denominación y formulación de las distintas EG se describe en la tabla 5.1 excepto las muestras O/SPI (emulsión convencional con ISP, **Capítulo 4.1**) y OEW (emulsión gelificada de avena elaborada sin agente gelificante, **Capítulo 4.3**).

La incorporación de agentes gelificantes en las emulsiones provocó un aumento de PF y GS (Figura 5.4) (**Capítulos 4.1 y 4.3**). Así, en las emulsiones de soja, la presencia de éstos provocó que PF y GS fueran significativamente superiores que aquellas que no los

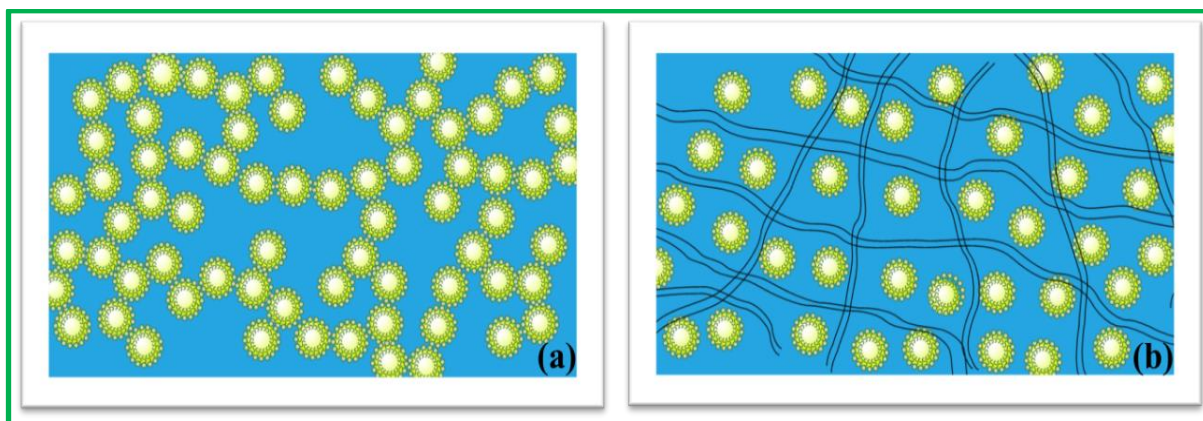
contenían (Figura 5.4) (**Capítulo 4.1**). En emulsiones de avena gelificadas (OE) los valores más altos ( $P < 0,05$ ) de PF y GS, para una misma proporción de avena/aceite (20/20 o 26/5 %), también los mostraron aquellas formuladas con agentes gelificantes (Figura 5.4) (**Capítulo 4.3**). Además, se encontraron diferencias en PF y GS atendiendo al agente gelificante empleado (Figura 5.4) (**Capítulos 4.2 y 4.3**). En las emulsiones de harina o semilla de chía (CF o CS) formuladas con gelatina o alginato se observaron valores de PF y GS significativamente superiores que en las que contenían MTG (Figura 5.4) (**Capítulo 4.2**). La presencia de alginato en las EG de avena, cuya concentración se encontraba por encima del 20 %, dio lugar a los valores de PF y GS más elevados ( $P < 0,05$ ) (Figura 5.4) (**Capítulo 4.3**). Sin embargo, en las emulsiones que contenían cantidades de avena inferiores no se observó una tendencia clara en relación con la presencia de estos agentes gelificantes (alginato o gelatina) y los parámetros de textura (**Capítulo 4.3**).

Las diferencias observadas en los valores de PF y GS en función del agente gelificante pueden atribuirse al distinto mecanismo de gelificación de cada uno de ellos. El alginato es un polisacárido que forma una estructura de gel que consiste en moléculas poliméricas reticuladas constituyendo una red tridimensional de elevada rigidez mecánica (Roopa y Bhattacharya, 2010). La gelatina, en cambio, es una proteína obtenida de tejido animal con capacidad de formar geles obteniendo una red estructural de gran resistencia (Sala, et al., 2009). Por otro lado, la MTG es una enzima que cataliza la unión entre moléculas proteicas que forma una estructura de gel (Dickinson, 2012).

En el caso de las EG de avena se comprobó además cómo la proporción de avena/aceite de oliva determinó sus características texturales (PF y GS) (Figura 5.4) (**Capítulo 4.3**). En particular, se observó un aumento en los valores de PF y GS cuando la proporción de avena fue mayor (Figura 5.4), que podría atribuirse a la contribución de alguno de sus componentes (proteínas y  $\beta$ -glucanos) a los procesos de emulsión y gelificación (Guan, et al., 2007; Nieto-Nieto, et al., 2014, 2015; Shen, et al., 2015; Souza, et al., 2015a). Tal efecto ayuda a explicar por qué las EG de avena formuladas sin agentes gelificantes (OE) también presentaron un comportamiento de gel, aunque de menor firmeza que en el caso de aquellas que contenían alginato o gelatina (Figura 5.4). El aumento de la firmeza observado con una proporción creciente de avena/aceite también puede estar relacionado con una mayor concentración "efectiva" de la proteína que actúa en la formación de la matriz gel/emulsión y con el tamaño de las gotas de la emulsión. Se ha descrito que la presencia de pequeñas gotas de emulsión contribuye a reforzar la estructura de la red al actuar como puntos de anclaje, aumentando consecuentemente la resistencia de

las EG (Dickinson, 2012, 2013; McClements, et al., 1993). De igual modo, otros autores observaron la formación de estructuras más fuertes en EG formuladas con inulina o carragenato cuando se disminuía la proporción de aceite (Paradiso, et al., 2015; Poyato, et al., 2014).

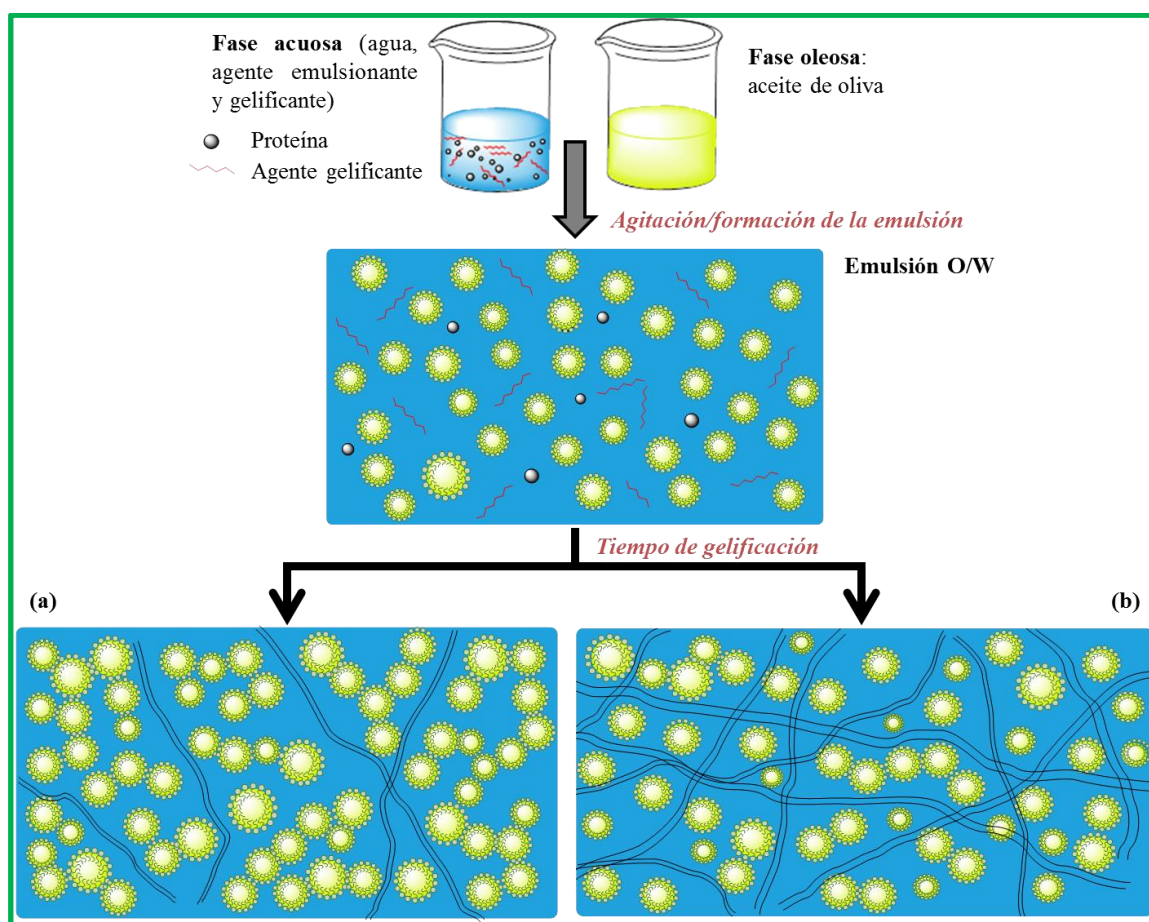
Las diferencias encontradas en los parámetros de textura de las EG son consecuencia del resultado neto de complejas interacciones entre los distintos componentes (emulsionante, gelificante y aceite) que las constituyen y que conforman su estructura. Según el mecanismo propuesto por Dickinson (2013), en las EG pueden co-existir básicamente dos tipos de estructuras dando lugar a una red formada por gotas de emulsión agregadas (Figura 5.5a) y una estructura reticulada de biopolímeros con partículas de emulsión en su interior (Figura 5.5b). La magnitud en la que se produzca una u otra estructura condicionará las propiedades texturales de las EG. Básicamente, en aquellas en las que la principal estructura sean partículas de emulsión agregadas (Figura 5.5a) la textura vendrá determinada por las interacciones entre ellas, mientras que en aquellas en las que la estructura mayoritariamente está formada por geles de biopolímeros con partículas en su interior (Figura 5.5b), las propiedades texturales estarán condicionadas principalmente por la naturaleza de la red (Dickinson, 2013).



**Figura 5.5.** Representación esquemática de los modelos ideales de la estructura de una EG: (a) gotas de emulsión agregadas, y (b) red de biopolímeros con partículas de emulsión en su interior. Adaptada de Dickinson (2012)

La comprensión de estas propiedades estructurales de EG puede ayudar a entender sus características texturales y estabilidad (Dickinson, 2012, 2013). Con tal propósito, se ha empleado la espectroscopia infrarroja (ATR-FTIR) (Herrero, et al., 2011a; Lee, et al., 2009) capaz de ofrecer información acerca de las características estructurales e interacciones de los diferentes componentes de las EG (**Capítulo 4.2**). En particular, se ha puesto de manifiesto que las EG de harina de chía que contienen alginato (CFA) o gelatina (CFG) presentan

menor desorden de la cadena lipídica o interacciones lipídicas y menor tamaño de gota de emulsión, así como una firmeza mayor ( $P < 0,05$ ) (Figura 5.4) que aquellas emulsiones que contienen MTG (CFT). En base a estos resultados se ha postulado que la estructura de las emulsiones CFA y CFG podría estar formada en gran parte por una red polimérica con partículas de pequeño tamaño en su interior (Figura 5.6b). Por el contrario, en las EG de chíá que contienen MTG (CFT), se ha establecido que en su estructura existiría una mayor presencia de gotas de emulsión agregadas (Figura 5.6a) que origina una menor firmeza (Figura 5.4). Este hecho se puede atribuir al mecanismo de acción de la MTG puesto que al tratarse de un proceso de gelificación más lento que en el caso de alginato y gelatina, ofrece una mayor oportunidad para la agregación de gotas emulsionadas.



**Figura 5.6.** Mecanismo propuesto de la formación de las EG de chíá en función del tipo de agente gelificante: (a) agregación de partículas de emulsión o (b) estructura reticulada de biopolímeros.

En base a los resultados expuestos, con el fin de mejorar las posibilidades de utilización de las EG, se seleccionaron varias de ellas para analizar su comportamiento en alguna de las condiciones de conservación que experimentan los productos cárnicos en los que se puedan incorporar. En tal sentido, se estudió cómo la conservación en refrigeración



(13 días) de EG de harina y semilla de chía (**Capítulos 4.2**), así como la conservación en refrigeración (15 días) y congelación (15 días) de las EG de avena (**Capítulo 4.3**) condicionaban sus características.

Los resultados obtenidos indicaron que las EG de chía y avena mantuvieron buenas propiedades ligantes de agua y grasa a lo largo de todo el periodo de conservación en refrigeración (**Capítulos 4.2 y 4.3**). En tal sentido, sólo algunas de las emulsiones de avena presentaron ciertos niveles de exudado, aunque tales pérdidas fueron inferiores al 5 % (**Capítulo 4.3**). Por otro lado, y también en algunas emulsiones de avena, se observaron cómo a lo largo de la conservación se produjeron niveles relativamente bajos (< 10 %) de pérdidas por tratamiento térmico.

En general, los valores de pH de las emulsiones de chía y avena no experimentaron cambios relevantes a lo largo de su conservación en refrigeración (**Capítulos 4.2 y 4.3**). Sin embargo, las formuladas con chía y MTG sufrieron un descenso significativo, presentando valores inferiores a 6,0 (**Capítulo 4.2**). En general, los parámetros de color de las EG no experimentaron cambios relevantes durante su conservación en refrigeración (**Capítulos 4.2 y 4.3**). No obstante, cabe destacar la existencia de un aumento ( $P < 0,05$ ) de los valores, tanto del parámetro  $a^*$ , en aquellas muestras formuladas con chía (semilla o harina) y alginato o gelatina, así como de  $b^*$  en las que contenían MTG (**Capítulo 4.2**). El proceso de conservación en refrigeración también condicionó la textura de las EG. En tal sentido, tanto las emulsiones de chía (harina o semilla) como las de avena experimentaron un aumento significativo aunque de escasa relevancia cuantitativa a nivel de PF y GS (**Capítulos 4.2 y 4.3**). Tal comportamiento, en EG de avena podría ser atribuido a la presencia de  $\beta$ -glucanos, como se ha observado en productos de panadería conservados a temperatura ambiente o en condiciones de refrigeración y congelación (Kalinga y Mishra, 2009).

Por otro lado, la aplicación de procesos de congelación en las EG de avena tuvo un efecto limitado sobre sus propiedades tecnológicas. Sin embargo, se observó una progresiva, aunque limitada disminución de las propiedades ligantes de agua y grasa (medida a través de las pérdidas por tratamiento térmico) a lo largo de la conservación en congelación. Asociado a tal comportamiento se produjo la formación de estructuras más fuertes como refleja el aumento de sus propiedades mecánicas (PF y GS) (**Capítulo 4.3**).

A modo de resumen se puede señalar que las EG, que presentan distintas y apropiadas propiedades (nutricionales, tecnológicas y de conservación), ofrecen un amplio abanico de posibilidades para su uso como sustitutos de grasa en la reformulación de productos cárnicos saludables y funcionales.

En base a sus características se seleccionaron varias de ellas para valorar la posibilidad de ser empleadas como ingredientes (sustitutos de grasa animal) en procesos de reformulación de productos cárnicos más saludables. Tal desarrollo se describe en el **capítulo 5.2**.

## **5.2 DESARROLLO DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS**

Los productos cárnicos, como se ha comentado previamente, se encuentran entre los alimentos que más contribuyen a la ingesta de lípidos en la dieta. Por sus implicaciones en la salud, resulta de especial interés desarrollar estrategias de reformulación encaminadas a la modificación de su contenido lipídico. En este contexto, se planteó la reformulación de dos tipos de derivados cárnicos de amplio consumo y con características diferentes: **salchichas tipo frankfurt** (producto tratado por calor) (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**) y **salchichas tipo longaniza** (producto fresco) (**Capítulo 4.6**). Su reformulación se realizó reemplazando la grasa animal por las EG consideradas más apropiadas (**Capítulo 5.1**), para mejorar su contenido lipídico y favorecer la presencia de determinados componentes con implicaciones beneficiosas en la salud (fibra, minerales, etc.) que permitan establecer declaraciones nutricionales y de propiedades saludables (Comisión Europea, 2006, 2012a), sin detrimento de las características del producto final.

### **5.2.1 Consideraciones sobre la formulación**

En el desarrollo de salchichas tipo frankfurt se reemplazó la totalidad del tocino por igual cantidad de diversas EG (Tabla 5.3) y emulsiones convencionales (tomadas como referencia) (**Capítulo 5.1**). Se emplearon, entre otras, EG con SPI y/o caseinato (5,2 %) (**Capítulo 4.1**) y con harina de chía (5 %) (**Capítulo 4.4**), ambas con un 52% de aceite de oliva (Tabla 5.1). En particular, la elección de la harina en lugar de la semilla de chía en la formulación de estas EG, se basó en las ventajas de manejo de la harina dado que no se apreciaron diferencias relevantes en sus características (**Capítulo 4.2**). Una vez comprobada la viabilidad de la aplicación de harina de chía en la preparación de los derivados cárnicos, se procedió a evaluar la posibilidad de aumentar su concentración en aras de potenciar aún más la presencia de los componentes bioactivos propios de este ingrediente (AGP, fibra, minerales, etc.) (**Capítulo 4.5**). Para ello, se estudió la incorporación de concentraciones elevadas (10 %) de harina de chía y 6,5 % de aceite de oliva en las salchichas reemplazando totalmente el tocino. Se analizaron las consecuencias de emplear diferentes estrategias de



incorporación en el producto: adición directa (CO) y en forma de emulsión convencional (CE) o gelificada (CEGA) (**Capítulo 4.5**).

**Tabla 5.3.** Formulación (%) de las salchichas tipo frankfurt y longaniza

		Fuente lipídica			Magro	Producto	
		EG*		Tocino			
		Denominación	Agente gelificante				
Frankfurt	SPI			17-21	55-68	<b>**NF/PF<sup>1,2 y 3</sup></b>	
				11-13	55-63	<b>**RF/PF<sup>2 y 3</sup></b>	
	SPI	O/SPI+SC+MTG	MTG	25,0	70,0	<b>F/SPI+SC+MTG<sup>1</sup></b>	
	Chía	CFT	MTG	21,0	63,0	<b>RF/T<sup>2</sup></b>	
		CFA	Alginato	21,0	63,0	<b>RF/A<sup>2</sup></b>	
		CFG	Gelatina	21,0	63,0	<b>RF/G<sup>2</sup></b>	
		CEGA	Alginato	38,7	55,0	<b>R/CEGA<sup>3</sup></b>	
Longaniza			29,0	29,0	60,0	<b>LNF/P<sup>4</sup></b>	
			7,2	7,2	60,0	<b>LRF/P<sup>4</sup></b>	
	Chía	CEG	Alginato	27,0	3,0	60,0	<b>LRF/CEG<sup>4</sup></b>
	Avena	OEA 20/20	Alginato	27,0	3,0	60,0	<b>LRF/OEG<sup>4</sup></b>

\*La composición detallada de las diferentes EG se ha descrito en la tabla 5.1. \*\*La cantidad de magro y tocino usado en la formulación de las salchichas NF/PF y RF/PF se presenta como el intervalo de cantidades empleadas en las diferentes salchichas estudiadas. Datos procedentes de: <sup>1</sup>Capítulo 4.1, <sup>2</sup>Capítulo 4.4; <sup>3</sup>Capítulo 4.5 y <sup>4</sup>Capítulo 4.6.

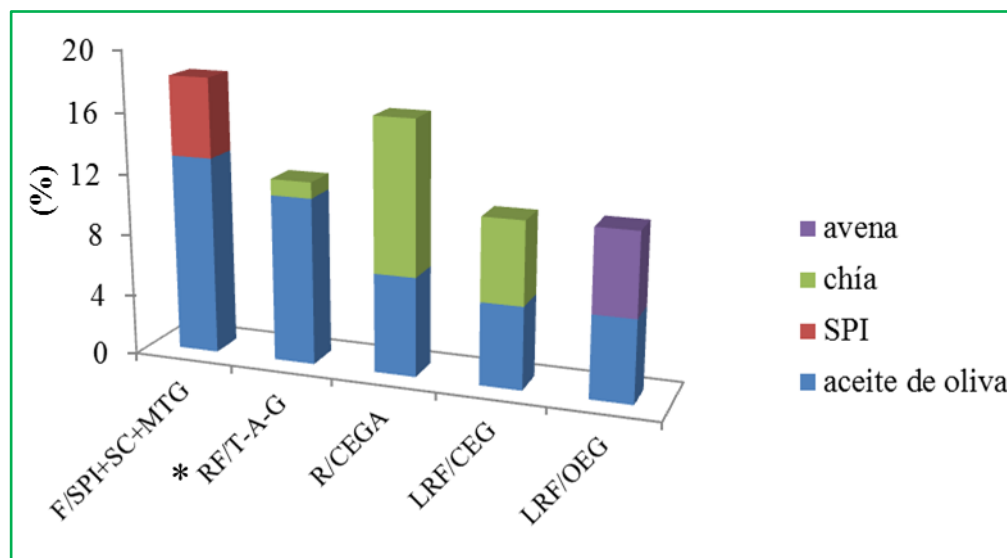
En las salchichas tipo longaniza (Tabla 5.3) (**Capítulo 4.6**), teniendo en cuenta que presentan alto contenido de grasa y una matriz con niveles relativamente bajos de desintegración estructural, se evaluó el efecto de la sustitución parcial de tocino (90 %) por EG para optimizar su contenido lipídico y favorecer la presencia de otros compuestos bioactivos. Para tal fin, se emplearon aquellas EG de chía y avena más apropiadas en relación a los criterios de composición y tecnológicos establecidos anteriormente (**Capítulo 5.1**). En particular, para elaborar las longanizas, se seleccionaron EG con 20 % de aceite de oliva, 20 % de chía (CEG) o de avena (OEA 20/20) y alginato (2 %) (Tabla 5.3) (**Capítulo 4.6**).

Además, para ambos tipos de productos se formularon muestras control con un contenido normal (NF/PF y LNF/P) y reducido (RF/PF y LRF/P) de grasa animal para poder evaluar el efecto de las estrategias de reformulación empleadas (Tabla 5.3).

De manera análoga a la descripción de los resultados y discusión de la sección de EG (Capítulo 5.1), a continuación se llevará a cabo un análisis de las características más relevantes de los productos cárnicos (salchichas tipo frankfurt y longaniza). Éste se centrará en las consecuencias derivadas de los procesos de reformulación en los aspectos nutricionales, así como en los tecnológicos, microbiológicos y sensoriales de los derivados, acompañado en su caso, del estudio del efecto de la conservación en refrigeración.

### 5.2.2 Aspectos nutricionales

A fin de valorar la aportación de compuestos con implicaciones beneficiosas para la salud que conllevan las diferentes estrategias de reformulación, un primer aspecto a considerar es la concentración de ingredientes vegetales presentes en los nuevos derivados cárnicos ya que son elementos esenciales para dotarlos de determinadas declaraciones nutricionales y de propiedades saludables. En tal sentido, en la figura 5.7 se recoge la proporción de cada uno de ellos.



**Figura 5.7.** Proporción de avena, chía, SPI y aceite de oliva en las salchichas tipo frankfurt y longaniza. La descripción de cada una de las muestras se detalla en la tabla 5.3. \* La muestra RF/T-A-G hace referencia a los productos RF/T, RF/A y RF/G (Tabla 5.3) que se presentan de forma conjunta dado que han sido formulados con la misma cantidad de EG que a su vez contienen las mismas proporciones de aceite de oliva y harina de chía.

El **contenido proteico** de los productos cárnicos elaborados estuvo comprendido aproximadamente entre 12,6 y 18,2 % (Tabla 5.4). Aunque la principal fuente de proteína es

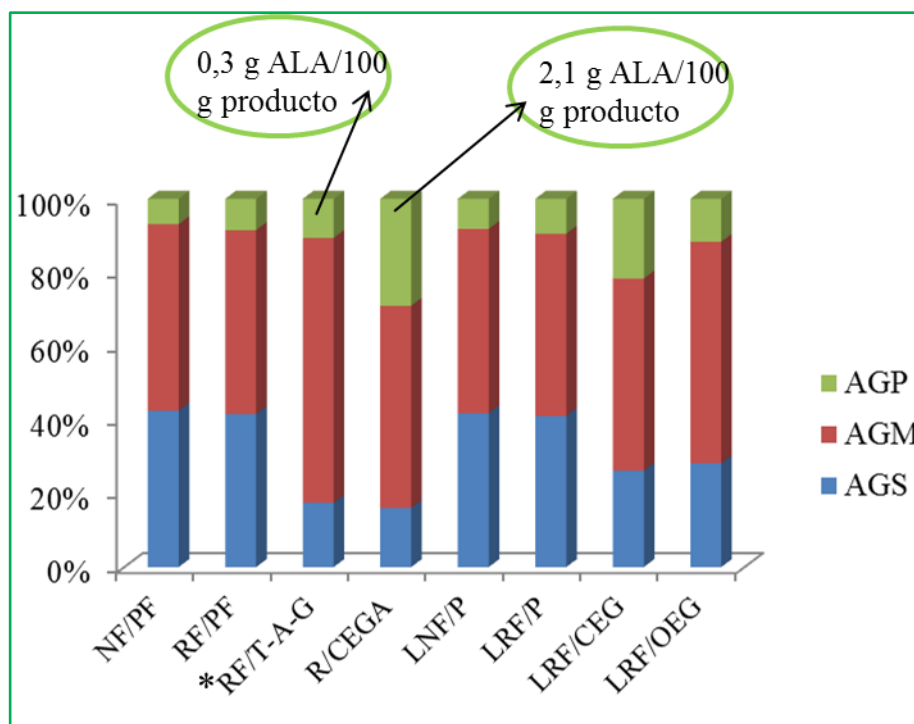
la carne con la que se elaboraron los productos, la presencia de EG de SPI, chía o avena también aporta una cantidad relevante de proteína. Además estos ingredientes contienen aminoácidos que mejoran la calidad aminoacídica de los productos (**Capítulo 5.1**). En particular, en las longanizas con EG de chía (LRF/CEG) se observaron aumentos significativos de ácido aspártico y glutámico, arginina y serina mientras que la presencia de avena (LRF/OEG) aumentó los niveles de serina, ácido glutámico y metionina (**Capítulo 4.6**). Cabe destacar el bajo ratio lisina/arginina que presentaron las longanizas LRF/CEG por el efecto descrito sobre la reducción del riesgo de aterosclerosis y el beneficio en relación con enfermedades del corazón (Feldman, 2002). Resultados similares se han observado con la incorporación de ingredientes tales como nuez o diferentes tipos de algas en productos cárnicos (Ayo, et al., 2007; López-López, et al., 2009a; Serrano, et al., 2005).

**Tabla 5.4.** Composición [proteína, grasa, fibra (g/100 g) y minerales (mg/100 g)] y valor energético (kcal/100 g) de salchichas tipo frankfurt y longaniza\*.

	Salchichas	Proteína	Grasa	Fibra	Minerales			Valor energético
					Ca	Mg	Mn	
Frankfurt	NF/PF <sup>1,2 y 3</sup>	15,8	22,2		1,5-5,4	15,4-14,7	0,05-0,08	265,1
	RF/PF <sup>2 y 3</sup>	14,9	13,5		0,9-7,4	15,4-16,3	0,04-0,09	184
	F/SPI+SC+MTG <sup>1</sup>	18,2	18,2					236,4
	RF/T <sup>2</sup>	16,2	14,3	0,3	32,3	18,3	0,08	196,8
	RF/A <sup>2</sup>	16,1	14,3	0,3	34,7	19,5	0,08	196,2
	RF/G <sup>2</sup>	16,5	14,0	0,3	6,8	19,8	0,09	195,5
	R/CEGA <sup>3</sup>	16,4	12,5	5,7	116,0	47,1	0,55	192,6
Longaniza	LNF/P <sup>4</sup>	14,0	29,9		6,8	19,1	0,1	314,3
	LRF/P <sup>4</sup>	12,9	10,0		7,6	18,8	0,1	133,6
	LRF/CEG <sup>4</sup>	13,6	11,4	1,6	112,9	37,7	0,29	158,0
	LRF/OEG <sup>4</sup>	12,6	10,6	2,4	80,9	33,6	0,78	148,3

\*La descripción de cada una de las muestras se detalla en la tabla 5.3. Datos procedentes de: <sup>1</sup> Capítulo 4.1, <sup>2</sup> Capítulo 4.4; <sup>3</sup> Capítulo 4.5 y <sup>4</sup> Capítulo 4.6

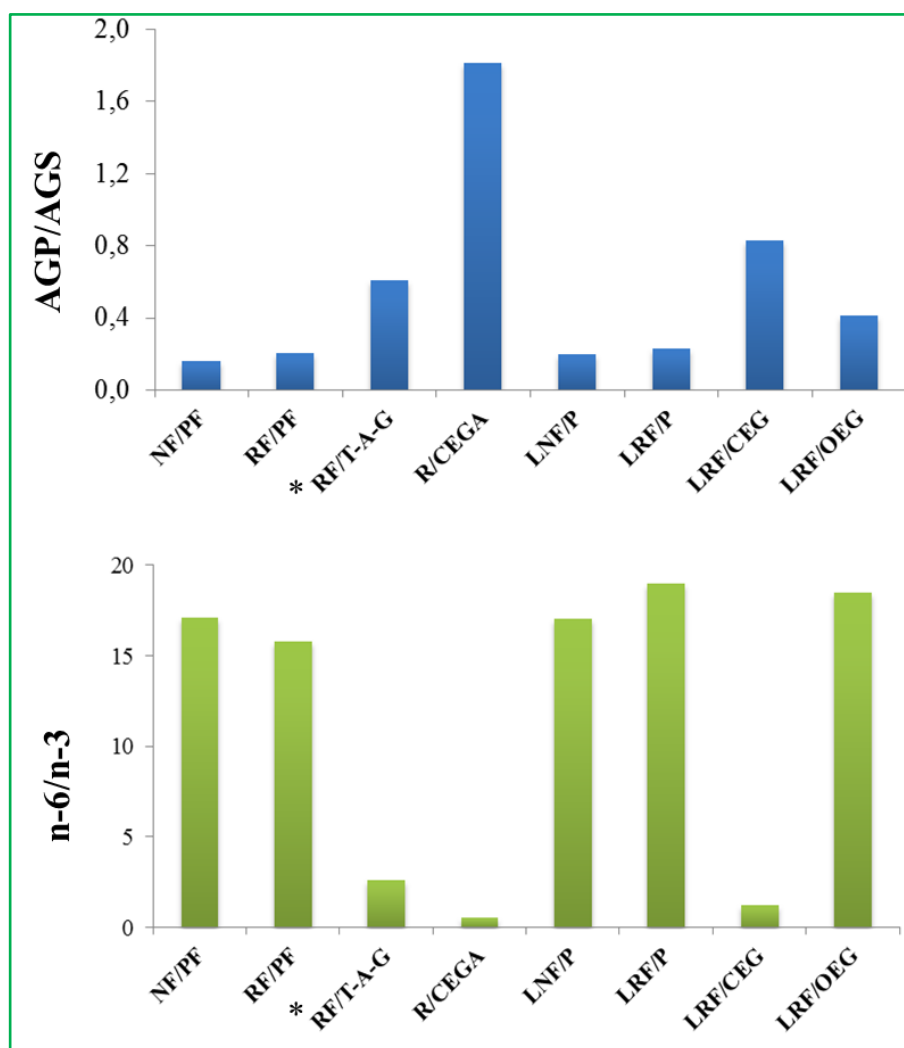
La reformulación de los elaborados cárnicos produjo importantes cambios en su **contenido lipídico** (porcentaje y perfil de ácidos grasos). La utilización de EG formuladas con distinto contenido de aceite (Tabla 5.1) permitió obtener derivados cárnicos con diferentes niveles de grasa total (10,6 - 18,2 %) (Tabla 5.4). En tal sentido, frente a los productos de referencia, se observó una disminución en torno al 40 - 45 % en salchichas tipo frankfurt elaboradas con EG de chía (**Capítulos 4.4 y 4.5**) y de hasta un 60 % en salchichas tipo longaniza, independientemente de la EG empleada en su preparación (**Capítulo 4.6**).



**Figura 5.8.** Proporción de AGS, AGM y AGP de los lípidos de salchichas tipo frankfurt y longaniza. La descripción de cada una de las muestras se detalla en la Tabla 5.3. \* La muestra RF/T-A-G hace referencia a los productos RF/T, RF/A y RF/G (Tabla 5.3) que se presentan de forma conjunta dado que han sido formulados con la misma cantidad de EG que a su vez contienen las mismas proporciones de aceite de oliva y harina de chía.

Además, el uso de EG en sustitución de la grasa animal produjo una mejora del **perfil lipídico** en las salchichas (Figuras 5.8 y 5.9). Como era de esperar, dada la composición de ácidos grasos de las EG (Figuras 5.1 y 5.2), esta estrategia permitió disminuir ( $P < 0.05$ ) la proporción de AGS y aumentar la cantidad de AGM y AGP en el producto final (Figura 5.8). Aunque los AGS generalmente se han descrito como factores de riesgo en el desarrollo de diversas enfermedades (McAfee, et al., 2010), algunos autores están cuestionando su papel en la salud del consumidor (Siri-Tarino, et al., 2010). Los AGM fueron los que se encontraron en mayor proporción (52 - 72 %) (Figura 5.8), siendo el ácido oleico el mayoritario debido fundamentalmente a la presencia de aceite de oliva (Figura 5.7). La proporción de AGP, ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA) en especial, fue particularmente elevada en salchichas formuladas con chía (Figura 5.7), lo que conduce a niveles de ALA comprendidos entre 0,3 y 2,1 g/100 g (Figura 5.8) (**Capítulos 4.4, 4.5 y 4.6**). Así pues, el consumo de las salchichas reformuladas con EG de chía, contribuiría de manera muy acusada a alcanzar los niveles de ingesta recomendados, 1,4 - 3 g de AGP n-3/día (EFSA, 2010b; Garg, et al., 2006), con el consiguiente efecto a nivel de prevención de ECV. El empleo de aceites vegetales y marinos ha sido la estrategia más empleada para mejorar el perfil lipídico de productos cárnicos, bien añadidos de forma directa (Ambrosiadis, et al.,

1996; López-López, et al., 2009c; Paneras y Bloukas, 1994; Rodríguez-Carpena, et al., 2012) o siguiendo estrategias para su estabilización en emulsiones, agentes de carga, etc. (Álvarez, et al., 2011; Paneras y Bloukas, 1994; Salcedo-Sandoval, et al., 2015a; Triki, et al., 2013b). Otros autores, empleando combinaciones de aceites (oliva, lino, pescado) no han conseguido niveles de ALA como los presentes en las salchichas elaboradas con EG de chía (Delgado-Pando, et al., 2010a; Poyato, et al., 2014; Salcedo-Sandoval, et al., 2015b). En otros estudios se ha adicionado harina de chía a productos cárnicos frescos (tipo hamburguesa) mejorando notablemente la proporción de AGP (Souza, et al., 2015a).



**Figura 5.9.** Relación AGP/AGS y n-6/n-3 en salchichas tipo frankfurt y longaniza. La descripción de cada una de las muestras se detalla en la tabla 5.3. \* La muestra RF/T-A-G hace referencia a los productos RF/T, RF/A y RF/G (Tabla 5.3) que se presentan de forma conjunta dado que han sido formulados con la misma cantidad de EG que a su vez contienen las mismas proporciones de aceite de oliva y harina de chía.

Además de la composición de ácidos grasos resulta interesante analizar ciertos parámetros que hacen referencia a la calidad de la grasa presente en un alimento (Figura 5.9). Todos los productos reformulados con EG mostraron un valor superior de la relación

AGP/AGS a 0,4 (Figura 5.9) que es el mínimo recomendado (Wood, et al., 2004). Aquellos que contenían chía fueron los que presentaron los valores más altos. Asimismo, se observó que la presencia de chía originó una baja relación n-6/n-3, mientras que aquellos que contenían EG de avena mostraron valores próximos a sus productos de referencia con grasa animal (tocino) (Figura 5.9). De lo anteriormente expuesto se desprende que se han alcanzado los objetivos de mejora del perfil lipídico, ya que varios de los productos cárnicos preparados están en línea con las recomendaciones nutricionales.

Las muestras reformuladas con EG de chía o avena presentaron un **contenido de fibra dietética** comprendido entre 0,3 y 5,7 % (Tabla 5.4), fundamentalmente insoluble en el caso de salchichas con chía, o soluble ( $\beta$ -glucanos) en aquellas que contenían avena (Figura 5.7) (**Capítulos 4.4, 4.5 y 4.6**). Dada la importancia de incluir fibra en la dieta, 28 - 36 g/día (Escudero y González, 2006; FEN, 2012; WHO/FAO, 2003), se han llevado a cabo varios esfuerzos para favorecer su presencia en alimentos de consumo frecuente, caso de derivados cárnicos. Aislados de fibra procedentes de distintas plantas, frutas deshidratadas o harinas de algunos cereales se han empleado en la industria cárnica con resultados prometedores. En general, estos ingredientes se han adicionando de forma directa durante la elaboración del producto, consiguiendo niveles habitualmente próximos a 3 g/100 g producto (Jiménez-Colmenero y Delgado-Pando, 2013; Mehta, et al., 2015a). El consumo de las salchichas reformuladas con EG de chía o avena contribuiría a alcanzar los niveles recomendados. Concretamente, la ingesta de 100 g de salchichas (R/CEGA) (**Capítulo 4.5**) que es la que exhibe mayor cantidad de fibra (Tabla 5.4) aportarían el 17 % de las recomendaciones establecidas.

La presencia de EG de chía y avena en las salchichas tiene especial interés en relación a su contenido de **minerales**. Destaca el aporte de Mg y Mn en todas ellas, además de Ca en los productos reformulados con EG de chía (Tabla 5.3) (**Capítulos 4.5 y 4.6**). Con el fin de favorecer la presencia de los mismos en derivados cárnicos, se ha ensayado la adición de diversos ingredientes, caracterizados por su contenido relativamente elevado en minerales, caso de algas o nueces (Ayo, et al., 2007; López-López, et al., 2009a; Serrano, et al., 2005)

**Tabla 5.5.** Ejemplos de declaraciones nutricionales y de propiedades saludables aplicables a las salchichas tipo frankfurt y longaniza, de acuerdo a los Reglamentos 1924/2006 y 432/2012 (Comisión Europea, 2006, 2012a).

Compuesto	Declaraciones nutricionales	Condiciones de uso	Declaraciones de propiedades saludables	Productos*
Proteína	Alto contenido de proteínas	Si las proteínas aportan, como mínimo, el 20 % del valor energético del producto.	Contribuye a: - aumentar masa muscular - mantener el buen estado de la masa ósea y muscular. Las proteínas son necesarias para un crecimiento y desarrollo normal en niños.	Todos los productos elaborados en la presente memoria.
Grasa	Contenido reducido de grasa	Si la reducción del contenido es de, como mínimo, el 30 % en comparación con un producto similar.		RF/T, RF/A y RF/G (Capítulo 4.4). R/CEGA (Capítulo 4.5). LRF/CEG y LRF/OEG (Capítulo 4.6).
AGS	Contenido reducido de AGS	Si la suma de AGS y de ácidos grasos trans es, como mínimo, un 30 % inferior a la de un producto similar.		RF/T, RF/A y RF/G (Capítulo 4.4). R/CEGA (Capítulo 4.5). LRF/CEG y LRF/OEG (Capítulo 4.6).
AGM	Alto contenido de grasas monoinsaturadas	Si al menos un 45 % de los ácidos grasos presentes en el producto proceden de grasas monoinsaturadas y éstas aportan más del 20 % del valor energético del producto.		RF/T, RF/A y RF/G (Capítulo 4.4). R/CEGA (Capítulo 4.5). LRF/CEG y LRF/OEG (Capítulo 4.6).
AG insaturados	Alto contenido de grasas insaturadas	Si al menos un 70 % de los ácidos grasos presentes en el producto proceden de grasa insaturadas y las grasas insaturadas aportan más del 20 % del valor energético del producto.	La sustitución de grasas saturadas por grasas insaturadas en la dieta contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.	RF/T, RF/A y RF/G (Capítulo 4.4). R/CEGA (Capítulo 4.5). LRF/CEG y LRF/OEG (Capítulo 4.6).

AG omega-3	Fuente de ácidos grasos omega-3	Si el producto contiene al menos 0,3 g de ALA/100 g producto.		RF/T, RF/A y RF/G ( <b>Capítulo 4.4</b> ).
	Alto contenido de ácidos grasos omega-3	Si el producto contiene al menos 0,6 g de ALA/100 g producto.	Contribuye a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo.	R/CEGA ( <b>Capítulo 4.5</b> ). LRF/CEG ( <b>Capítulo 4.6</b> ).
Fibra	Fuente de fibra	Si el producto contiene como mínimo 3 g de fibra/100 g producto.		R/CEGA ( <b>Capítulo 4.5</b> ).
Manganeso (Mn)	Fuente de manganeso	Contener al menos una cantidad significativa tal como se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 0,3 mg/100 g).	Contribuye a: - mantener un metabolismo energético normal	R/CEGA ( <b>Capítulo 4.5</b> ).
	Alto contenido de manganeso	Contener al menos una cantidad significativa tal como se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 0,6 mg/100 g).	- la formación del tejido conectivo - proteger las células frente al daño oxidativo - mantener huesos.	LRF/OEG ( <b>Capítulo 4.6</b> ).
Potasio (K)	Fuente de potasio	Contener al menos una cantidad significativa tal como se define en el anexo de la Directiva 90/496/CEE (> 300 mg/100 g).	Contribuye: - en el funcionamiento normal del sistema nervioso y muscular - a mantener la tensión arterial normal.	LRF/CEG y LRF/OEG ( <b>Capítulo 4.6</b> ).
Energía	Valor energético reducido	Si el valor energético se reduce, como mínimo, en un 30 % con una indicación de la característica/s que provoca la reducción del valor energético total del alimento.		RF/T, RF/A y RF/G ( <b>Capítulo 4.4</b> ). LRF/CEG y LRF/OEG ( <b>Capítulo 4.6</b> ).

*\*La descripción de las muestras se detalla en la Tabla 5.3*



El **valor energético** de las salchichas tipo frankfurt reformuladas con EG está comprendido entre 193 y 236 kcal/100 g, mientras que en el caso de las de tipo longaniza varía entre 148 y 158 kcal/100 g. Estos valores, en comparación con sus productos de referencia con tocino, fueron en torno al 26 - 32 % inferiores en las salchichas tipo frankfurt (**Capítulos 4.4 y 4.5**) y cerca del 50 % en las salchichas tipo longaniza (**Capítulo 4.6**).

De todo lo expuesto, se deduce que el uso de EG de chía y/o avena como estrategia de reformulación de salchichas tipo frankfurt y longaniza permite dotarlas de un contenido lipídico más en línea con los objetivos nutricionales, así como de la presencia de otros componentes bioactivos (fibra, minerales, etc.). Esto posibilitaría, de acuerdo a los Reglamentos (CE) nº 1924/2006 y 432/2012 (Comisión Europea, 2006, 2012a), atribuir a los productos reformulados varias declaraciones nutricionales y de propiedades saludables (Tabla 5.5).

### **5.2.3 Aspectos tecnológicos, microbiológicos y sensoriales**

A continuación se analiza la influencia que ejercen los procesos de reformulación descritos anteriormente (**Capítulo 5.2.1**), y de conservación de salchichas tipo frankfurt y tipo longaniza sobre distintas características relacionadas con su capacidad para ligar agua y grasa, pH, color, textura, estructura, oxidación lipídica, estabilidad microbiana y propiedades sensoriales. Como consecuencia de las diferencias intrínsecas de estos productos, el análisis de los resultados obtenidos más relevantes, se describe de forma independiente para cada uno de ellos.

#### *5.2.3.1 Salchichas tipo frankfurt*

Las **propiedades ligantes de agua y grasa** del producto se valoraron en función de las pérdidas derivadas de su procesado. Éstas estuvieron comprendidas entre el 9 y 17 % (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**), pudiéndose considerar normales para este tipo de productos (Delgado-Pando, et al., 2010a; Serdaroğlu, et al., 2016a). Las salchichas elaboradas con reducido contenido de grasa animal (13,5 %) (RF/PF, Tabla 5.4) presentaron las pérdidas más elevadas ( $P < 0,05$ ). Estos resultados están en consonancia con la reducción de la capacidad para ligar agua y grasa que ofrecen este tipo de productos como consecuencia de sustituir la grasa animal por agua manteniendo su nivel proteico prácticamente constante (Cavestany, et al., 1994; Jiménez-Colmenero, et al., 1995a). En tal sentido, el aumento en los niveles de agua produjo una disminución

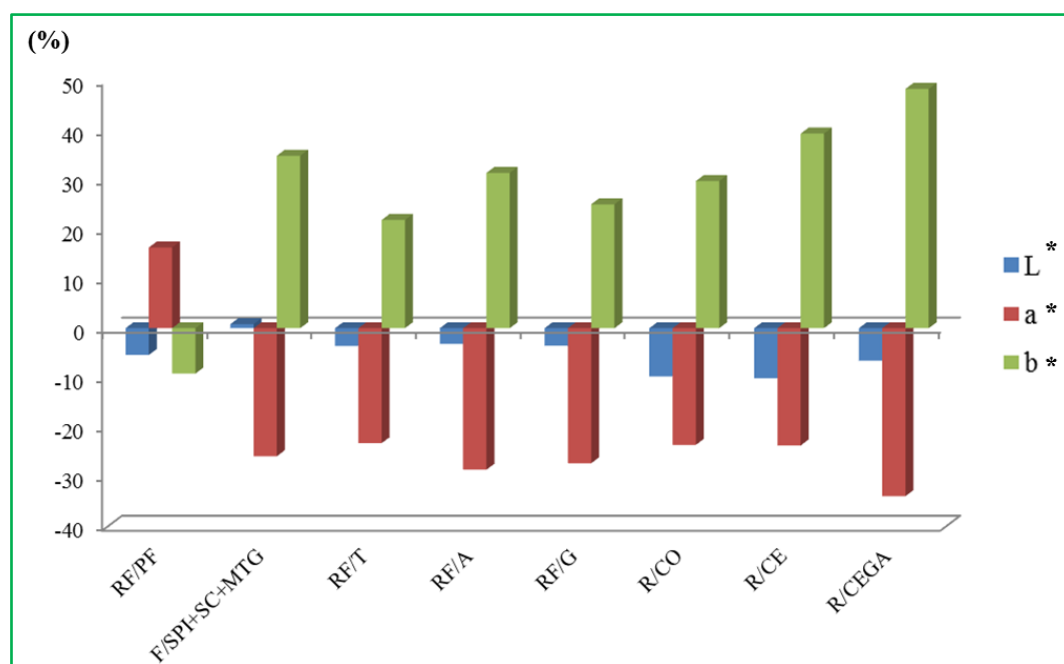
de la concentración relativa de la proteína implicada en la formación de la emulsión cárnica, reduciéndose las propiedades ligantes de agua y grasa (Jiménez-Colmenero, 1996). En general, no se observaron diferencias significativas en las pérdidas por procesado (próximas al 10 %) entre las salchichas con un contenido normal (22,2 %) de grasa animal (NF/PF, Tabla 5.4) y aquellas otras en las que se reemplazó la totalidad del tocino por emulsiones formuladas con 52 % de aceite de oliva y SPI y/o SC o chía (**Capítulos 4.1 y 4.4**). Otros autores han encontrado valores de pérdidas por procesado similares o superiores en productos cárnicos cocidos reformulados con aceites vegetales y marinos adicionados directamente o estabilizados en emulsiones convencionales o con agentes gelificantes tales como MTG (Delgado-Pando, et al., 2010<sup>a</sup>, López-López, et al., 2009b; Paneras y Bloukas, 1994).

Cuando se comparan entre sí las salchichas con un contenido reducido de grasa (13,5 %, Tablas 5.3 y 5.4), se puede observar que las propiedades ligantes de agua y grasa mejoraron significativamente al reemplazar el tocino (100 %) por harina de chía y aceite de oliva independientemente de la cantidad relativa empleada en cada uno de estos ingredientes (**Capítulos 4.4 y 4.5**). Se ha puesto de manifiesto que estos valores dependían significativamente de la estrategia de incorporación utilizada [adición directa (R/CO), en emulsión convencional (R/CE) o EG (R/CEGA) **Capítulo 4.5**], observándose que aquellos productos reformulados con EG de chía (R/CEGA, Tabla 5.3) presentaron las menores ( $P < 0,05$ ) pérdidas durante su procesado (**Capítulo 4.5**). Por otro lado, se comprobó que no existían diferencias significativas en las propiedades ligantes de agua y grasa de las salchichas reformuladas (RF/T, RF/A y RF/G, Tabla 5.3) en función del agente gelificante (alginato, gelatina o MTG) empleado en la formulación de la EG incorporada (**Capítulo 4.4**).

Los valores de **pH** de las salchichas, independientemente de la estrategia de reformulación utilizada, se situaron entre 6,0 - 6,4, dentro del margen descrito para este tipo de productos (Bloukas y Paneras, 1993; Delgado-Pando, et al., 2010b; López-López, et al., 2009b).

La reformulación de las salchichas produjo cambios apreciables en la medida objetiva del **color** (Figura 5.10). La reducción de la grasa animal en las salchichas (RF/PF, Tabla 5.3) hizo que los productos presentaran tonalidades más oscuras y rojizas pero menos amarillentas que los productos con un contenido normal tomados como referencia (Figura 5.10, Tabla 5.3). Estos resultados están en consonancia con los observados en productos de la misma naturaleza (Hughes, et al., 1997). Sin embargo,

cuando la grasa animal fue reemplazada en su totalidad por los diferentes sustitutos (SPI, chía, etc., Tabla 5.1), se obtuvieron en general, productos relativamente menos rojizos que los elaborados con un contenido normal de grasa (Figura 5.10) (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**). Además, la presencia de estos sustitutos de grasa animal, independientemente del tipo, dio lugar a salchichas comparativamente más amarillas que los productos tomados como referencia (Figura 5.10), posiblemente debido al color característico del aceite de oliva (Borges, et al., 2017). Simultáneamente, el parámetro de luminosidad varió en función del tipo y cantidad de ingrediente (SPI, chía, etc.) utilizado para reemplazar la grasa animal (Tabla 5.3). En este sentido, los productos en los que se incorporó chía, presentaron en relación con aquellos tomados como referencia (NF/PF, Tabla 5.3), los valores comparativamente más bajos de  $L^*$ , siendo este efecto más acusado al aumentar la cantidad de chía (Figura 5.10). Posiblemente, las tonalidades menos claras y rojizas de las salchichas con chía, pueden atribuirse al color característico de este ingrediente (Coelho y Salas-Mellado, 2015; Steffolani, et al., 2014).



**Figura 5.10.** Variación relativa (% tomando como referencia los valores del producto con un contenido normal de grasa animal) de los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) de las salchichas tipo frankfurt reformuladas. La descripción de las muestras se detalla en la tabla 5.3, excepto para aquellas reformuladas adicionando chía (10 %) y aceite de oliva (6,5 %) directamente (R/CO) o en emulsión convencional (R/CE) (**Capítulo 4.5**).

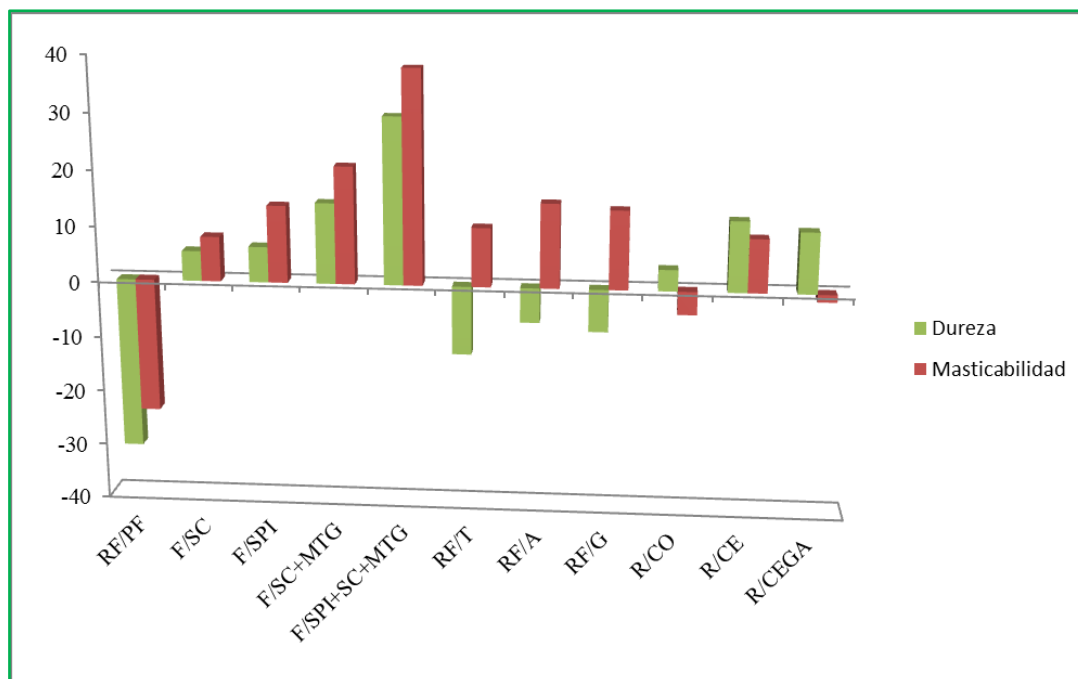
El procedimiento de incorporación de estos sustitutos de grasa, en particular chía (10 %) y aceite de oliva (6,5 %), influyó también en la variación del color del producto.

En tal sentido, en las salchichas en las que estos ingredientes se adicionaron en forma de EG (R/CEGA, Tabla 5.3), la magnitud de los cambios, en relación con el producto de referencia, fue mayor para los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  (Figura 5.10) (**Capítulo 4.5**). Otros autores han descrito también un incremento en los valores de  $L^*$  y  $b^*$  en salchichas tipo bologna en las que se sustituyó (50 %) el tocino por EG de carragenato y aceite de lino (Poyato, et al., 2014). Asimismo, los distintos agentes gelificantes empleados (alginato, gelatina o MTG) en las EG de chíá, provocaron diferentes efectos sobre los parámetros de color (Figura 5.10) de las salchichas (RF/T, RF/A y RF/G) (**Capítulo 4.4**). Aquellas que contenían alginato (RF/A, Tabla 5.3) fueron las que presentaron una variación superior de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  (Figura 5.10) (**Capítulo 4.4**).

Teniendo en cuenta que las estrategias de reformulación estudiadas han elevado la proporción de ácidos grasos insaturados en las salchichas (Figura 5.8), es necesario hacer balance de sus posibles efectos sobre los procesos de **oxidación**. Los niveles de oxidación lipídica, evaluados mediante TBARs (**Capítulo 3.3.2**), fueron significativamente mayores en aquellas salchichas que contenían más cantidad de chíá (10 %) (R/CO, R/CE y R/CEGA) (**Capítulo 4.5**). Sin embargo, cabe señalar que en todos los casos, los valores de TBARs se situaron por debajo del umbral organoléptico de detección de la rancidez ( $\geq 1$  mg MDA/kg muestra) (Ockerman, 1976) (**Capítulos 4.4 y 4.5**). Otros autores que formularon salchichas tipo frankfurt con emulsiones elaboradas con diversas combinaciones de SPI, SC y MTG (Delgado-Pando, et al., 2011) observaron niveles de oxidación superiores a los encontrados en las salchichas reformuladas con harina de chíá y aceite de oliva. La presencia de antioxidantes tanto en chíá como en aceite de oliva (Ixtaina, 2010; Sánchez-Muniz, 2007), podría explicar los niveles relativamente bajos de oxidación encontrados en el presente trabajo.

La **textura** es uno de los atributos que más condiciona la aceptación del alimento por parte del consumidor. En este sentido, el efecto de las diferentes estrategias de reformulación empleadas (**Capítulo 5.2.1**) fue evaluado a través de distintos parámetros de textura, haciendo especial hincapié en dos de ellos, dureza y masticabilidad, por su especial relevancia (Figura 5.11) (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**). Al reducir el contenido de grasa (RF/PF, Tabla 5.4) se observó que los valores de dureza y masticabilidad de las salchichas disminuían con respecto a los productos con contenido normal de grasa (Figura 5.11) (**Capítulos 4.4 y 4.5**). Cuando esto se produce, aumenta la proporción de agua y la cantidad de proteína “efectiva” que actúa en la formación del sistema gel/emulsión disminuye. Esto supone la reducción de la densidad de la matriz y

por ello la obtención de productos más blandos y con menor capacidad ligante de agua y grasa (Berasategi, et al., 2014; Cavestany, et al., 1994; Claus, et al., 1989).



**Figura 5.11.** Variación relativa (% tomando como referencia los valores del producto con un contenido normal de grasa animal) de la dureza y masticabilidad de las salchichas tipo frankfurt reformuladas. La descripción de cada una de las muestras se detalla en la tabla 5.3, excepto para aquellas reformuladas reemplazando el tocino por emulsiones de aceite de oliva (52 %) con SPI (5 %) (F/SPI), SC (5 %) (F/SC) y SC (5 %)+MTG (0,4 %) (F/SC+MTG) (**Capítulo 4.1**), así como aquellas en las que se incorporó chía (10 %) y aceite de oliva (6,5 %) directamente (R/CO) o en emulsión convencional (R/CE) (**Capítulo 4.5**).

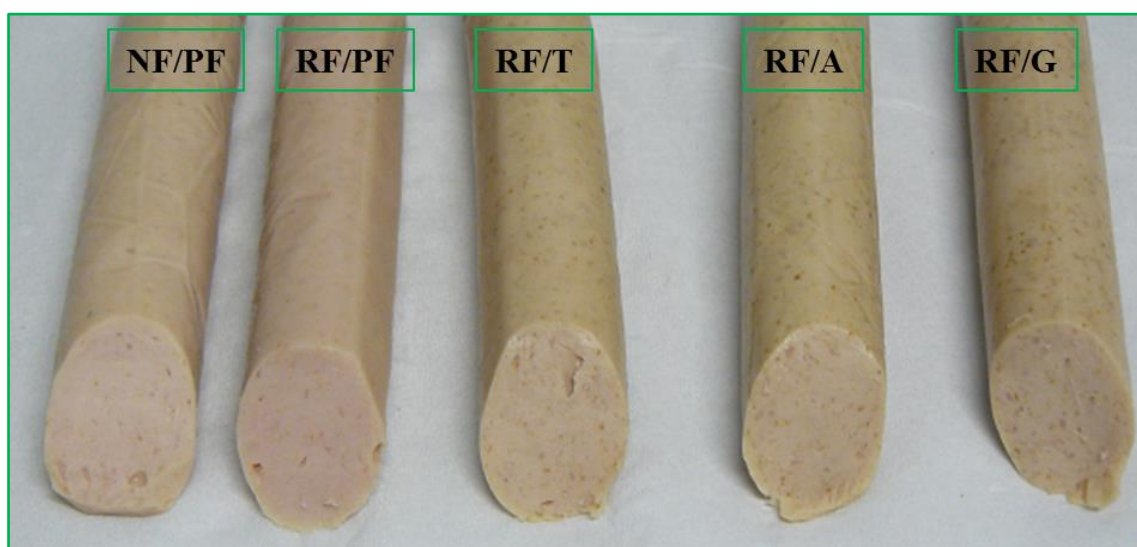
En general, la completa sustitución de tocino por las diferentes combinaciones de SPI, chía, aceite de oliva, agentes gelificantes, etc. provocó que los productos presentaran valores de masticabilidad comparativamente mayores que su referencia (NF/PF) (Figura 5.11). Sin embargo, el efecto observado en la dureza presentó diferencias en función del tipo de sustituto empleado y de su concentración así como de la cantidad de aceite. En este sentido, en los productos preparados con emulsiones de similar concentración de aceite (52 %) se observó que la presencia de SPI y/o SC, tanto en emulsiones convencionales (F/SC, F/SPI) como en EG (F/SC+MTG, F/SPI+SC+MTG) provocó mayor incremento relativo de dureza, respecto a los productos de referencia (NF/PF, Tabla 5.3), que los originados por las EG elaboradas con 5 % de chía (RF/T, RF/A, RF/G) (Figura 5.11). Estas diferencias son coherentes con los cambios observados en las emulsiones de SPI y chía (**Capítulo 5.1.3**) asociados a su contenido proteico y propiedades tecnológicas (capacidad emulsionante,

gelificante, etc.) (Coorey, et al., 2014; Kinsella, 1979; Nishinari, et al., 2014; Olivos-Lugo, et al., 2010). Asimismo, en las salchichas reformuladas con chía, los resultados han puesto de manifiesto que el aumento de la cantidad de chía, y la consecuente disminución de aceite para reemplazar la grasa animal, provocó, comparativamente a sus productos de referencia, un claro aumento de la dureza de los productos (R/CO, R/CE, R/CEG), independientemente de la estrategia de incorporación empleada (adición directa, emulsión convencional o EG) (Figura 5.11). Por otro lado, no se observó un efecto notable en los cambios de dureza y masticabilidad de las salchichas reformuladas con EG con un 5 % de chía y 52 % de aceite (R/T, R/A y R/G) en función del agente gelificante empleado (MTG, alginato o gelatina) (Figura 5.11). Tales productos elaborados con EG de chía presentan mayor inter- e intramolecular desorden de las cadenas lipídicas lo que implica mayor interacción lípido-proteína que sus productos homólogos elaborados con reducido contenido de grasa animal (RF/PF) lo que podría explicar su diferente comportamiento textural (**Capítulo 4.4**).

Los estudios **microbiológicos** realizados ayudaron a entender cómo las estrategias de formulación condicionaron el crecimiento de microorganismos. Los niveles de contaminación iniciales en las salchichas fueron muy bajos independientemente de la proporción de grasa animal o presencia de EG (**Capítulos 4.4 y 4.5**), comportamiento esperado teniendo en cuenta el tratamiento térmico al que se sometieron durante su procesado. A pesar de ello, en los productos con menor contenido en grasa se observó una disminución significativa de la presencia de aerobios viables totales (TVC) y bacterias ácido lácticas (LAB) (**Capítulo 4.4**). Por otro lado, las muestras con EG de alginato presentaron los mayores ( $P < 0,05$ ) niveles de TVC y LAB (**Capítulo 4.4**).

Con independencia de lo que indiquen los parámetros físico-químicos, sus atributos de calidad **sensorial** son los que determinan el grado de aceptación final de los productos por el consumidor y por tanto la bondad de las estrategias de reformulación. En la figura 5.12 se muestra la apariencia de distintas salchichas tipo frankfurt. Las salchichas con contenido reducido de grasa animal (RF/PF, Tabla 5.3) recibieron una valoración igual o superior en los parámetros sensoriales evaluados (sabor, color, aceptación general, etc.) que aquellas formuladas con un contenido normal (NF/PF, Tabla 5.3) (**Capítulos 4.4 y 4.5**). En general, reemplazar tocino por EG, independientemente de la estrategia empleada, dio lugar a productos menos valorados sensorialmente, aunque resultaron aceptables ya que obtuvieron puntuaciones por

encima de los valores medios de la escala sensorial (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**). Las salchichas con chía, fueron las que presentaron mayores diferencias en relación a su control con grasa animal (NF/PF) a nivel de color y textura (**Capítulos 4.1, 4.4 y 4.5**). Tales diferencias podrían atribuirse tanto a aspectos intrínsecos del producto como a la desconfianza del consumidor frente a nuevas propuestas. En todo caso, el grado de aceptación de los nuevos productos, se ha descrito mejoraría si se informase al consumidor (catador) de sus los posibles efectos beneficiosos para la salud (Carrillo, et al., 2013; Grasso, et al., 2014).



**Figura 5.12.** Salchichas tipo frankfurt formuladas con un contenido normal (NF/PF) y reducido de grasa animal (RF/PF) y con EG de chía (RF/T, RF/A y RF/G) (**Capítulo 4.4**). La descripción de cada una de las muestras se detalla en la tabla 5.3

Se ensayaron **procesos de conservación** (refrigeración) característicos de este tipo de productos para estudiar posibles cambios en sus propiedades. Durante dicho periodo en refrigeración, las salchichas presentaron pérdidas de exudado (agua y grasa) comprendidas entre 0,8 - 2,8 %, indicando buena estabilidad en términos de propiedades ligantes de la matriz cárnica (**Capítulos 4.4 y 4.5**). Las salchichas formuladas con contenido reducido de grasa animal (RF/PF, Tabla 5.3) mostraron mayores ( $P < 0,05$ ) pérdidas durante la conservación en relación con los productos con contenido normal de grasa (NF/PF, Tabla 5.3). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas relacionadas con las pérdidas producidas durante la conservación de las salchichas en función de la presencia de chía y aceite de oliva así como del procedimiento empleado para su incorporación (adición directa, emulsión convencional o EG) (**Capítulos 4.4 y 4.5**). Los niveles de pérdidas durante la conservación fueron similares a los indicados por otros autores en salchichas tipo frankfurt en las que el tocino fue sustituido por

sistemas de aceite estabilizado en EG o agentes de carga (Delgado-Pando, et al., 2010a; Salcedo-Sandoval, et al., 2013).

En consonancia con lo descrito por otros autores en condiciones similares, los cambios en el pH a lo largo de la conservación en refrigeración fueron de escasa relevancia ( $< 0,02$  unidades), (Delgado-Pando, et al., 2010a; Salcedo-Sandoval, et al., 2013).

Aunque se observaron algunos cambios, en general la conservación en refrigeración tuvo un efecto mínimo en los parámetros de color (**Capítulos 4.4 y 4.5**). Este mismo comportamiento fue observado por otros autores en productos cocidos formulados con aceite estabilizado en emulsión, EG o agentes de carga en sustitución de tocino (Bloukas y Paneras, 1993; Poyato, et al., 2014; Salcedo-Sandoval, et al., 2013).

Las salchichas, independientemente de su formulación, presentaron buena estabilidad frente a procesos de oxidación dado que los valores de TBARs permanecieron sin cambios ( $P > 0,05$ ) durante la conservación de los productos. Como se ha comentado anteriormente, esto puede ser debido a la presencia de compuestos antioxidantes tanto en el chía como en el aceite de oliva (Ixtaina, 2010; Sánchez-Muniz, 2007).

Asimismo, no se encontró una tendencia clara en la evolución de los parámetros de textura durante la conservación en refrigeración, no obstante los niveles que estos alcanzaron al final del periodo estudiado fueron en general, superiores en todas las muestras (**Capítulos 4.4 y 4.5**). Este hecho es coherente con el aumento de dureza observado en EG de chía durante su conservación en refrigeración (**Capítulo 5.1.3**). Variaciones similares de textura han sido también observadas en productos cocidos con un contenido lipídico mejorado incorporando aceites de lino y oliva estabilizados en agentes de carga o EG durante su conservación en refrigeración (Herrero, et al., 2014b; Poyato, et al., 2014; Salcedo-Sandoval, et al., 2013).

Como era de esperar, la contaminación microbiológica en las salchichas aumentó a lo largo de su conservación en refrigeración, si bien su magnitud dependió del tipo de EG empleada como sustituto de grasa en la elaboración de las mismas. Las salchichas formuladas con un contenido reducido de grasa y EG con menor contenido de chía (RF/T, RFA y RF/G, Tabla 5.3) (**Capítulo 4.4**) presentaron una carga microbiana (TVC y LAB) menor ( $P < 0,05$ ) que sus homólogos con grasa animal, además, aquellas formuladas con EG con mayor contenido de chía (R/CEGA) también presentaron menor ( $P < 0,05$ ) carga microbiana que sus controles con un contenido



normal de grasa (**Capítulo 4.5**). Este fenómeno podría atribuirse a la acción de ciertos compuestos con actividad antimicrobiana como los polifenoles presentes en chía (Daglia, 2012; Reyes-Caudillo, et al., 2008). Estos resultados son de especial relevancia puesto que una reducción de grasa, generalmente implica un contenido de humedad mayor creando un medio más propicio para el crecimiento bacteriano (Ruiz-Capillas, et al., 2007).

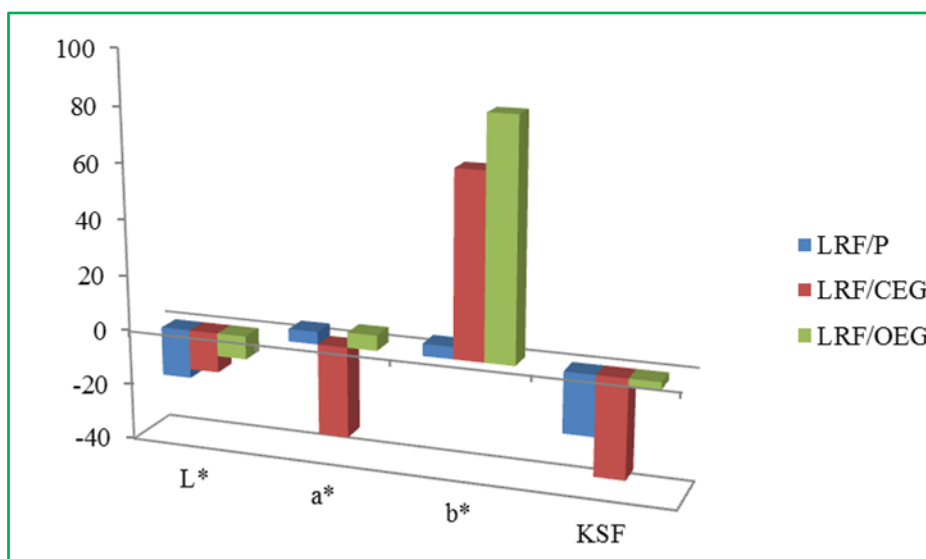
#### 5.2.3.2 *Salchichas tipo longaniza*

Las **propiedades ligantes de agua y grasa** de salchichas tipo longaniza por efecto del tratamiento térmico (**Capítulo 3.3.2**), estuvieron condicionadas por su formulación. Aquellas elaboradas con grasa animal (LNF/P y LRF/P) (Tabla 5.3) fueron las que presentaron mayores ( $P < 0,05$ ) pérdidas totales (próximas al 24 %). La sustitución parcial de la grasa animal por EG de chía (LRF/CEG) o avena (LRF/OEG) (Tabla 5.3) incrementó notablemente la estabilidad del producto con pérdidas totales inferiores al 1 % (**Capítulo 4.6**). No se apreciaron diferencias significativas en función del empleo de EG de chía o avena. Este comportamiento podría atribuirse a la excelente capacidad de retención de agua y grasa de las EG empleadas en la formulación tal como se ha descrito en el **capítulo 5.1.3**.

Los valores de **pH** de las salchichas tipo longaniza estuvieron próximos a 6,0, similares a los observados por otros autores en productos cárnicos de naturaleza análoga (Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2010; Scapin, et al., 2015).

Aunque el estudio del **color** de las salchichas tipo longaniza no ha sido incluido en ninguna publicación de la memoria (**Capítulo 4**), a continuación, por su complementariedad, se expone un breve resumen del efecto que provocó la reformulación de longanizas en dichos parámetros ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) (Figura 5.13). La reducción del contenido lipídico en las muestras formuladas únicamente con grasa animal (LRF/P) dio lugar a salchichas relativamente más oscuras pero con valores similares de  $a^*$  y  $b^*$  que los productos de referencia (Figura 5.13). La presencia de las distintas EG como sustitutos de grasa animal condicionó los parámetros de color de las salchichas, siendo las formuladas con EG de avena (LRF/OEG, Tabla 5.3) las que presentaron, comparativamente, los valores de luminosidad más próximos a los productos control (LNF/P, Tabla 5.3). Por otro lado, aquellas formuladas con EG de chía (LRF/CEG, Tabla 5.3) fueron las que presentaron los valores relativamente más bajos de  $a^*$  (Figura 5.13). Este hecho como ha sido descrito, también fue observado en

salchichas tipo frankfurt, y podría atribuirse al color característico de la chía (**Capítulo 5.2.3.1**). La presencia de EG (LRF/CEG y LRF/OEG, Tabla 5.3) favorece la formación de matrices cárnicas con mayores valores relativos de  $b^*$  (Figura 5.13).



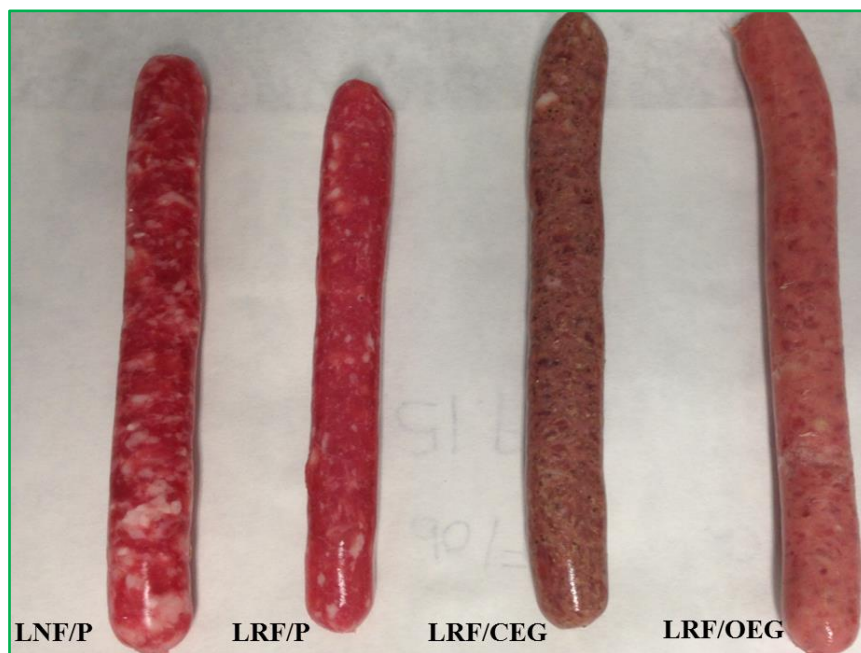
**Figura 5.13.** Variación relativa (% tomando como referencia los valores del producto con un contenido normal de grasa animal) de los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) y de textura (KSF, N/g) de las salchichas tipo longaniza (**Capítulo 4.6**). La descripción de cada una de las muestras se detalla en la tabla 5.3.

En relación a la **textura** de las longanizas, se puso de manifiesto que los procesos de formulación ensayados dieron lugar a productos más blandos que su referencia (LNF/P, Tabla 5.3). Por otro lado, mientras que la magnitud de los cambios fue mayor en las longanizas que contenían chía (LRF/CEG), aquellas con EG de avena (LRF/OEG) presentaron una textura más próxima a la del control (Figura 5.13) (**Capítulo 4.6**).

Por sus características, las salchichas tipo longaniza constituyen un medio favorable para el desarrollo microbiano. El **análisis microbiológico** puso de manifiesto que todas las salchichas presentaron un nivel de contaminación por bacterias ácido lácticas similar ( $P > 0,05$ ). Sin embargo, aquellas con EG con chía (LRF/CEG, Tabla 5.3) presentaron mayor ( $P < 0,05$ ) carga de TVC ( $< 4,5$  Log ucf/g) y Enterobacterias (3,25 Log ucf/g) (**Capítulo 4.6**). La contaminación microbiana que presentaron las longanizas fue menor a la observada en productos cárnicos de la misma naturaleza (Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2010; Triki, et al., 2013b).

En la figura 5.14 se presenta la apariencia, en crudo, de las salchichas tipo longaniza. En el **análisis sensorial**, las muestras formuladas con grasa animal (LNF/P y LRF/P) fueron mejor valoradas en la mayoría de los parámetros evaluados (color, sabor,

textura y aceptación general). A pesar de que en general las salchichas reformuladas con EG fueron menos valoradas que las elaboradas con grasa animal, todas ellas presentaron puntuaciones por encima de los niveles de aceptación (**Capítulo 4.6**). Otros autores que emplearon EG de aceite de girasol (40 %) y carragenato para sustituir diferentes porcentajes de grasa animal (25, 50, 75 y 100 %) a fin de mejorar el contenido lipídico de productos cárnicos frescos (patties), no observaron diferencias en las propiedades sensoriales evaluadas (Poyato, et al., 2015).



**Figura 5.14.** Salchichas tipo longaniza formuladas con un contenido normal (LNF/P) y reducido de grasa animal (LRF/P) y con EG de chía (LRF/CEG) y avena (LRF/OEG) (**Capítulo 4.6**). La descripción de las muestras se detalla en la tabla 5.3

A lo largo de la **conservación** en refrigeración de las salchichas tipo longaniza apenas experimentaron cambios en sus propiedades tecnológicas (perdidas por conservación, pH, etc.) (**Capítulo 4.6**). No obstante, cabe destacar que en general, los valores de textura se incrementaron ( $P < 0,05$ ) durante la conservación. Este hecho puede relacionarse con el aumento de firmeza observado en las EG de chía y avena durante su conservación en refrigeración (**Capítulo 5.1.3**). Se observó un crecimiento significativo de TVC y LAB en salchichas con contenido normal de grasa (LRF/P) y aquellas formuladas con EG de chía (LRF/CEG, Tabla 5.3) (**Capítulo 4.6**). No obstante, los niveles de microorganismos fueron menores que los indicados por otros autores en productos cárnicos frescos durante su conservación en refrigeración (do Amaral, et al., 2015; Georgantelis, et al., 2007), fenómeno que podría atribuirse a la presencia de diversos ingredientes propios de los preparados comerciales usados en la elaboración de

los productos o de polifenoles propios de la chía (Daglia, 2012; Reyes-Caudillo, et al., 2008; Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2010; Triki, et al., 2013b) (**Capítulo 4.6**).

En el marco de las estrategias de reformulación empleadas en salchichas tipo frankfurt y longaniza, cabe señalar que la utilización de EG para reemplazar grasa animal, aunque ocasionó ciertas modificaciones en sus características, éstas en general se consideraron aceptables en relación a sus propiedades tecnológicas, organolépticas y de seguridad. Además, algunas de las limitaciones descritas pueden paliarse con procesos relativamente simples y de fácil aplicación.



## **6. CONCLUSIONES**



## 6. CONCLUSIONES

Del trabajo expuesto a lo largo de la presente memoria se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. Se establecen nuevas propuestas de desarrollo de materiales lipídicos en forma de emulsiones gelificadas capaces de estabilizar diferentes concentraciones de aceite de oliva, empleando como agente emulsionante fuentes proteicas alternativas, harina y semilla de chía (*Salvia hispanica*, L.) o salvado de avena (*Avena sativa* L.), y como agente de estructuración compuestos capaces de gelificar en frío (MTG, alginato y gelatina). Todo ello favorece la formación de matrices sólidas, con características próximas a la grasa animal pero con un perfil nutricional saludable.
2. La estrategia de reformulación de emulsiones gelificadas basada en el empleo de fuentes proteicas alternativas (chía o avena) y aceite de oliva permite la obtención de un nuevo ingrediente que presenta una combinación de compuestos con implicaciones beneficiosas para la salud, fundamentalmente a nivel de contenido lipídico (ácido oleico,  $\alpha$ -linolénico, etc.), fibra dietética (insoluble,  $\beta$ -glucanos) y minerales (Ca, Mg, Mn, Zn, etc.). Se obtiene así un material lipídico especialmente adecuado para ser empleado como sustituto de grasa animal.
3. Las propiedades tecnológicas de las emulsiones gelificadas están condicionadas por factores de composición y procesado, si bien el procedimiento de gelificación se muestra como un factor determinante de la textura del sistema. Tal hecho parece estar relacionado con aspectos relativos a la concentración proteica y lipídica así como asociada al orden/desorden de las cadenas lipídicas y a las interacciones que contribuyen a la agregación de las partículas de la emulsión y la estructura de la red de gel. El sistema muestra una adecuada viabilidad tecnológica en condiciones habituales de conservación (refrigeración/congelación).
4. La sustitución total o parcial de la grasa animal por emulsiones gelificadas preparadas con aceite de oliva, chía o avena y gelificantes en frío, resulta una estrategia adecuada para obtener productos cárnicos (salchichas tipo frankfurt y longaniza) más saludables en base a un contenido lipídico mejorado (cuantitativa y cualitativamente) y la presencia de diversos compuestos bioactivos (fibra, minerales, etc.). En tal sentido,



esto posibilita establecer diferentes alegaciones nutricionales y de propiedades saludables.

5. El empleo de emulsiones gelificadas en la reformulación de salchichas tipo frankfurt, independientemente de su composición y propiedades tecnológicas, produjo cambios similares en la matriz cárnica asociados a la existencia de un mayor desorden en las cadenas lipídicas atribuido a mayor interacción lípido-proteína que parece condicionar la formación de estructuras más rígidas y con mejores propiedades ligantes de agua y grasa.

6. Las diferentes estrategias utilizadas de adición de chía y aceite de oliva condicionan de distinto modo la naturaleza de la matriz cárnica en salchichas tipo frankfurt. En tal sentido, mientras que su incorporación en forma de emulsiones conduce a la formación de texturas apropiadas, su empleo como emulsión gelificada mejora además las propiedades ligantes de agua y grasa del sistema.

7. Los procedimientos de reformulación ensayados en el desarrollo de salchichas tipo frankfurt y longaniza, si bien condicionan sus características (color, pH, propiedades sensoriales, etc.), permiten la obtención de productos con adecuada viabilidad tecnológica, microbiológica y sensorial, sin limitaciones, en términos de seguridad o vida útil, adicionales a las de un derivado cárnico de naturaleza análoga.

Como **conclusión general** hay que señalar que la estrategia de estructuración de aceite, permite obtener materiales lipídicos con una composición y plasticidad apropiada para ser empleados como sustitutos de grasa animal en procesos de reformulación de derivados cárnicos. Independientemente del tipo de matriz cárnica, su utilización ha posibilitado la obtención de productos más saludables en base a la presencia simultánea de diversos compuestos con actividad biológica relacionada con beneficios para la salud, con propiedades tecnológicas y organolépticas adecuadas y seguros.

## **REFERENCIAS**



## REFERENCIAS

- Abuissa, H., O'Keefe, J. H., y Cordain, L. (2005). Realigning our 21st century diet and lifestyle with our hunter-gatherer genetic identity. *Directions Psychiatry*, 25, SR1-SR10.
- Aggett, P. J., Antoine, J. M., Asp, N. G., Bellisle, F., Contor, L., Cummings, J. H., Howlett, J., Muller, D. J. G., Persin, C., Pijls, L. T. J., Rechkemmer, G., Tuijelaars, S., y Verhagen, H. (2005). PASSCLAIM - Consensus on criteria. *European Journal of Nutrition*, 44, 5-30.
- Aguilera, M. C., Barberá, J. M., Díaz, L. E., Duarte, A., Gálvez, J., Gil, A., Gómez, S., González-Gross, M., Granado, F., Guarner, F., Marcos, A., Martínez, O., Nova, E., Olmedilla-Alonso, B., Pujol-Amat, P., Ramos, E., Romeo, J., Tobal, F. M., Vidal, D. R., Wärnberg, J., y Zarzuelo, A. (2007). Alimentos Funcionales. Aproximación a una nueva alimentación. Madrid: Subdirección General de Salud Pública y Alimentación.
- Ajazuddin, A., Khichariya, A., Gupta, S., Patel, R. J., Giri, T. K., y Tripathi, D. K. (2013). Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel. *Journal of Controlled Release*, 171, 122-132.
- Alakhrash, F., Anyanwu, U., y Tahergorabi, R. (2016). Physicochemical properties of Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) surimi gels with oat bran. *Lwt-Food Science and Technology*, 66, 41-47.
- Alejandre, M., Poyato, C., Ansorena, D., y Astiasarán, I. (2016). Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat Science*, 121, 107-113.
- Álvarez, D., y Barbut, S. (2013). Effect of inulin,  $\beta$ -Glucan and their mixtures on emulsion stability, color and textural parameters of cooked meat batters. *Meat Science*, 94, 320-327.
- Álvarez, D., Delles, R. M., Xiong, Y. L., Castillo, M., Payne, F. A., y Laencina, J. (2011). Influence of canola-olive oils, rice bran and walnut on functionality and emulsion stability of frankfurters. *Lwt-Food Science and Technology*, 44, 1435-1442.
- Alves dos Santos, B., Bastianello Campagnol, P. C., Bertoldo Pacheco, M. T., y Rodrigues Pollonio, M. A. (2012). Fructooligosaccharides as a fat replacer in

- fermented cooked sausages. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 1183-1192.
- Ambrosiadis, J., Vareltzis, K. P., y Georgakis, S. A. (1996). Physical, chemical and sensory characteristics of cooked meat emulsion style products containing vegetable oils. *International Journal of Food Science and Technology*, 31, 189-194.
- Amini Sarteshnizi, R., Hosseini, H., Bondarianzadeh, D., Jiménez-Colmenero, F., y khaksar, R. (2015). Optimization of prebiotic sausage formulation: Effect of using  $\beta$ -glucan and resistant starch by D-optimal mixture design approach. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 704-710.
- Anal, A. K., y Stevens, W. F. (2005). Chitosan-alginate multilayer beads for controlled release of ampicillin. *International Journal of Pharmaceutics*, 290, 45-54.
- Anderson, E. T., y Berry, B. W. (2001). Effects of inner pea fiber on fat retention and cooking yield in high fat ground beef. *Food Research International*, 34, 689-694.
- Ando, H., Adachi, M., Umeda, K., Matsuura, A., Nonaka, M., Uchio, R., Tanaka, H., y Motoki, M. (1989). Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53, 2613-2617.
- Ando, S., Sakuma, M., Morimoto, Y., y Arai, H. (2015). The effect of various boiling conditions on reduction of phosphorus and protein in meat. *Journal of Renal Nutrition*, 25, 504-509.
- Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., y Hristozova, T. (2006). Development of a new oat-based probiotic drink. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 75-80.
- Angiolillo, L., Conte, A., y Del Nobile, M. A. (2015). Technological strategies to produce functional meat burgers. *Lwt-Food Science and Technology*, 62, 697-703.
- Annunziata, A., y Vecchio, R. (2011). Functional foods development in the European market: A consumer perspective. *Journal of Functional Foods*, 3, 223-228.
- AOAC. (2002). *Official method of analysis of AOAC International* (18 th ed.). In). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- AOAC. (2005). *Official method of analysis of AOAC International* (18 th ed.). In 18 ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.

- Arendt, E. K., y Zannini, E. (2013). Oats. En E. K. Arendt, y E. Zannini (Eds), *Cereal grains for the food and beverages industries* (pp. 243-238e). Woodhead.
- Arihara, K. (2004). Functional Food. En W. K. Jensen, C. Devine, y M. Dikeman (Eds.), *Encyclopedia of meat sciences* (pp. 245-274). Oxford: Elsevier.
- Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74, 219-229.
- Arroyo, P. (2008). La alimentación en la evolución del hombre: su relación con el riesgo de enfermedades crónico degenerativas. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 65, 431-440.
- Ávila-de la Rosa, G., Álvarez-Ramírez, J., Vernon-Carter, E. J., Carrillo-Navas, H., y Pérez-Alonso, C. (2015). Viscoelasticity of chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage dispersion in the vicinity of an oil-water interface. *Food Hydrocolloids*, 49, 200-207.
- Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty-acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from 5 northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 72, 1079-1081.
- Ayerza, R., y Coates, W. (2004). Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Tropical Science*, 44, 131-135.
- Ayerza, R., y Coates, W. (2009). Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and alpha-linolenic content of three chia (*Salvia hispanica* L.) selections. *Industrial Crops and Products*, 30, 321-324.
- Ayerza, R., y Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1366-1371.
- Ayo, J., Carballo, J., Serrano, J., Olmedilla-Alonso, B., Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Effect of total replacement of pork backfat with walnut on the nutritional profile of frankfurters. *Meat Science*, 77, 173-181.
- Ball, J., Sawyer, J., Lambert, B., Ramirez, H., Adcock, L., Wyatt, R., y Costilla, J. (2016). Assessment of oat fiber technology in ground beef intended for international meat formulations. *Meat Science*, 112, 120-121.
- Banchathanakij, R., y Suphantharika, M. (2009). Effect of different  $\beta$ -glucans on the gelatinisation and retrogradation of rice starch. *Food Chemistry*, 114, 5-14.

- Banon, S., Díaz, P., Nieto, G., Castillo, M., y Alvarez, D. (2008). Modelling the yield and texture of comminuted pork products using color and temperature. Effect of fat/lean ratio and starch. *Meat Science*, 80, 649-655.
- Barbut, S., Wood, J., y Marangoni, A. (2016). Potential use of organogels to replace animal fat in comminuted meat products. *Meat Science*, 122, 155-162.
- Bartsch, H., Ohshima, H., y Pignatelli, B. (1988). Inhibitors of endogenous nitrosation - mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mutation Research*, 202, 307-324.
- Berasategi, I., García-Íñiguez de Ciriano, M., Navarro-Blasco, I., Calvo, M. I., Cavero, R. Y., Astiasarán, I., y Ansorena, D. (2014). Reduced-fat bologna sausages with improved lipid fraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 744-751.
- Beriain, M. J., Gómez, I., Petri, E., Insausti, K., y Sarries, M. V. (2011). The effects of olive oil emulsified alginate on the physico-chemical, sensory, microbial, and fatty acid profiles of low-salt, inulin-enriched sausages. *Meat Science*, 88, 189-197.
- Biesalski, H. K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Muller, M., Schrenk, D., Walter, P., y Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition*, 25, 1202-1205.
- Bligh, E. G., y Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Bloukas, J. G., y Paneras, E. D. (1993). Substituting olive oil for pork backfat affects quality of low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, 58, 705-709.
- Bloukas, J. G., Paneras, E. D., y Fournitzis, G. C. (1997). Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 45, 133-144.
- BOE (2014). Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos. Ministerio de la Presidencia. (pp 46058-46078).
- Böhm, N., y Kulicke, W.-M. (1999). Rheological studies of barley (1→3)(1→4)-β-glucan in concentrated solution: mechanistic and kinetic investigation of the gel formation. *Carbohydrate Research*, 315, 302-311.
- Bomdespacho, L. Q., Cavallini, D. C. U., Zavarizi, A. C. M., Pinto, R. A., y Rossi, E. A. (2014). Evaluation of the use of probiotic acid lactic bacteria in the

- development of chicken hamburger. *International Food Research Journal*, 21, 965-972.
- Borges, T. H., Pereira, J. A., Cabrera-Vique, C., Lara, L., Oliveira, A. F., y Seiquer, I. (2017). Characterization of Arbequina virgin olive oils produced in different regions of Brazil and Spain: Physicochemical properties, oxidative stability and fatty acid profile. *Food Chemistry*, 215, 454-462.
- Borneo, R., Aguirre, A., y León, A. E. (2010). Chia (*Salvia hispanica* L) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *Journal of the American Dietetic Association*, 110, 946-949.
- Bou, R., Cofrades, S., y Jiménez-Colmenero, F. (2013). Properties of W1/O/W2 emulsions as potential fat replacers in meat products. En M. Serdaroğlu, y T. Akcan (Eds.), Proceedings of 59th international congress of meat science and technology (ICoMST 2013). Izmir, Turkey.
- Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62-&.
- Braren, M., y Gormley, R. (1998). Oat-enriched fish products. *Farm & Food*, 8, 33-36.
- Brummer, Y., Defelice, C., Wu, Y., Kwong, M., Wood, P. J., y Tosh, S. M. (2014). Textural and rheological properties of oat beta-glucan gels with varying molecular weight composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 3160-3167.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., y Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104, 467-483.
- Bushway, A. A., Belyea, P. R., y Bushway, R. J. (1981). Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. *Journal of Food Science*, 46, 1349-&.
- Butt, M. S., Tahir-Nadeem, M., Khan, M. K. I., Shabir, R., y Butt, M. S. (2008). Oat: unique among the cereals. *European Journal of Nutrition*, 47, 68-79.
- Cáceres, E., García, M. L., y Selgas, M. D. (2006). Design of a new cooked meat sausage enriched with calcium. *Meat Science*, 73, 368-377.
- Calvo, M. M., García, M. L., y Selgas, M. D. (2008). Dry fermented sausages enriched with lycopene from tomato peel. *Meat Science*, 80, 167-172.
- Calligaris, S., Ignat, A., Biasutti, M., Innocente, N., y Nicoli, M. C. (2015). Cheese fortification using saturated monoglyceride self-assembly structures as carrier of omega-3 fatty acids. *International Journal of Food Science & Technology*, 50, 2129-2134.



- Campos, B. E., Ruivo, T. D., Scapim, M. R. D., Madrona, G. S., y Bergamasco, R. D. (2016). Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *Lwt-Food Science and Technology*, 65, 874-883.
- Capitani, M. I., Nolasco, S. M., y Tomás, M. C. (2016). Stability of oil-in-water (O/W) emulsions with chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage. *Food Hydrocolloids*, 61, 537-546.
- Carbajal, A. (2005). Evolución del consumo de carne y derivados. Factores que condicionan su ingesta y papel nutricional en la dieta española. En F. Jiménez-Colmenero, B. Olmedilla-Alonso y F. Sánchez-Muñiz (Eds.), Derivados cárnicos funcionales: estrategias y perspectivas. Madrid: Fundación Española de la Nutrición (FEN).
- Carballo, J., Ayo, J., y Jiménez-Colmenero, F. (2006). Microbial transglutaminase and caseinate as cold set binders: Influence of meat species and chilling storage. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 692-699.
- Carrillo, E., Prado-Gasco, V., Fiszman, S., y Varela, P. (2013). Why buying functional foods? Understanding spending behaviour through structural equation modelling. *Food Research International*, 50, 361-368.
- Cavestany, M., Jiménez-Colmenero, F., Solas, M. T., y Carballo, J. (1994). Incorporation of sardine surimi in Bologna sausage containing different fat levels. *Meat Science*, 38, 27-37.
- Cengiz, E., y Gokoglu, N. (2007). Effects of fat reduction and fat replacer addition on some quality characteristics of frankfurter-type sausages. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 366-372.
- Chang, T., Wang, C., Wang, S., Shi, L., Yang, H., y Cui, M. (2014). Effect of okara on textural, color and rheological properties of pork meat gels. *Journal of Food Quality*, 37, 339-348.
- Che Rohani, A., Nor Salasiah, M., y Ashadi, Y. (2010). Effect of cereal fibre on the physico-chemical quality and sensory acceptability of instant fish crackers. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 38(1), 39-49.
- Chen, B., McClements, D., y Decker, E. (2013). Design of foods with bioactive lipids for improved health. En M. P. Doyle y T. R. Klaenhammer (Eds.). *Annual Review of Food Science and Technology*, 4, (pp. 35-56).

- Chen, H. M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K., y Nokihara, K. (1998). Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 49-53.
- Cheng, J. H., Wang, S. T., y Ockerman, H. W. (2009). Quality of low-fat and low-sodium salted pork patties with whey protein concentrate. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 64, 74-77.
- Cheong, L.-Z., Zhang, H., Nersting, L., Jensen, K., Haagenzen, J. A. J., & Xu, X. (2010). Physical and sensory characteristics of pork sausages from enzymatically modified blends of lard and rapeseed oil during storage. *Meat Science*, 85(4), 691-699.
- Chevance, F. F. V., Farmer, L. J., Desmond, E. M., Novelli, E., Troy, D. J., y Chizzolini, R. (2000). Effect of some fat replacers on the release of volatile aroma compounds from low-fat meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3476-3484.
- Ching, S. H., Bansal, N., y Bhandari, B. (2015). Physical stability of emulsion encapsulated in alginate microgel particles by the impinging aerosol technique. *Food Research International*, 75, 182-193.
- Ching, S. H., Nidhi, B., y Bhesh, B. (2016). Rheology of emulsion-filled alginate microgel suspensions. *Food Research International*, 80, 50-60.
- Chung, C., Degner, B., y McClements, D. J. (2014). Reduced calorie emulsion-based foods: Protein microparticles and dietary fiber as fat replacers. *Food Research International*, 64, 664-676.
- Cierach, M., Modzelewska-Kapitula, M., y Szacilo, K. (2009). The influence of carrageenan on the properties of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 82, 295-299.
- Claus, J. R., Hunt, M. C., y Kastner, C. L. (1989). Effects of substituting added water for fat on the textural, sensory and processing characteristics of Bologna. *Journal of Muscle Foods*, 1, 1-21.
- Clemens, R., y van Klinken, B. J.-W. (2014). The future of oats in the food and health continuum. *The British journal of nutrition*, 112, S75-79.
- Co, E. D., y Marangoni, A. G. (2012). Organogels: an alternative edible oil-structuring method. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 89, 749-780.
- Coates, W., y Ayerza, R. (2009). Chia (*Salvia hispanica* L.) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of

- the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. *Journal of Animal Science*, 87, 3798-3804.
- Cocores, J. A., y Gold, M. S. (2009). The Salted Food Addiction Hypothesis may explain overeating and the obesity epidemic. *Medical Hypotheses*, 73, 892-899.
- Codex Alimentarius. (1981). Norma del codex para los aceites de oliva vírgenes y refinados y los aceites refinados de orujo de aceituna. Codex stan 33-1981 (rev. 2015).
- Coelho, M. S., y Salas-Mellado, M. d. I. M. (2015). Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 729-736.
- Cofrades, S., Antoniou, I., Solas, M. T., Herrero, A. M., y Jiménez-Colmenero, F. (2013). Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food Chemistry*, 141, 338-346.
- Cofrades, S., Guerra, M. A., Carballo, J., Fernández-Martin, F., y Jiménez-Colmenero, F. (2000). Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *Journal of Food Science*, 65, 281-287.
- Cofrades, S., López-López, I., y Jiménez-Colmenero, F. (2011a). Applications of seaweed in meat based functional products. En S. K. Kim (Ed.), *Handbook of marine macroalgae: Biotechnology and applied phycology* (pp. 491-499). JohnWiley & Sons.
- Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., y Jiménez-Colmenero, F. (2011b). Quality characteristics of low-salt restructured poultry with microbial transglutaminase and seaweed. *Meat Science*, 87, 373-380.
- Cofrades, S., Santos-López, J. A., Freire, M., Benedi, J., Sánchez-Muñiz, F. J., y Jiménez-Colmenero, F. (2014). Oxidative stability of meat systems made with W-1/O/W-2 emulsions prepared with hydroxytyrosol and chia oil as lipid phase. *Lwt-Food Science and Technology*, 59, 941-947.
- Comaposada, J., Gou, P., Marcos, B., y Arnau, J. (2015). Physical properties of sodium alginate solutions and edible wet calcium alginate coatings. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 212-219.
- Comisión Europea. (1997). Reglamento (CE) No 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de enero de 1997 sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios. Diario Oficial de la Unión Europea.

- Comisión Europea. (2006). Reglamento (CE) No 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2008a). Directiva 2008/100/CE de la Comisión de 28 de octubre de 2008 por la que se modifica la Directiva 90/496/CEE del Consejo, relativa al etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, en lo que respecta a las cantidades diarias recomendadas, los factores de conversión de la energía y las definiciones. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2008b). Reglamento (CE) No 1332/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008 sobre enzimas alimentarias y por el que se modifican la Directiva 83/417/CEE del Consejo, el Reglamento (CE) no 1493/1999 del Consejo, la Directiva 2000/13/CE, la Directiva 2001/112/CE del Consejo y el Reglamento (CE) no 258/97. Diario Oficial de la Unión Europea: Parlamento Europeo.
- Comisión Europea. (2009a). Decisión de la Comisión de 13 de octubre de 2009 por la que se autoriza la comercialización de semillas de chía (*Salvia hispanica*) como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) No 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2009b). Reglamento (CE) No 41/2009 de la Comisión de 20 de enero de 2009 sobre la composición y etiquetado de productos alimenticios apropiados para personas con intolerancia al gluten. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2010). Reglamento (UE) No 116/2010 de la Comisión de 9 de febrero de 2010 por el que se modifica el Reglamento (CE) no 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la lista de declaraciones nutricionales. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2011). Reglamento (UE) No 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011 sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) No 1924/2006 y (CE) No 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se derogan la Directiva 87/250/CEE de la Comisión, la Directiva 90/496/CEE del Consejo, la Directiva 1999/10/CE de la Comisión, la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 2002/67/CE, y 2008/5/CE de

la Comisión, y el Reglamento (CE) No 608/2004 de la Comisión. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2012a). Reglamento (UE) No 432/2012 de la Comisión de 16 de mayo de 2012 por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2012b). Reglamento (UE) No 1047/2012 de la Comisión de 8 de noviembre de 2012 por el que se modifica el Reglamento (CE) No 1924/2006 en lo relativo a la lista de declaraciones nutricionales. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2013a). Decisión de ejecución de la Comisión de 22 de enero de 2013 por la que se autoriza una extensión de los usos de las semillas de chía (*Salvia hispanica*) como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) No 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2013b). Decisión de ejecución de la comisión de 24 de enero de 2013 por la que se adoptan directrices para la aplicación de las condiciones específicas relativas a las declaraciones de propiedades saludables establecidas en el artículo 10 del Reglamento (CE) No 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2013c). Reglamento (UE) No 536/2013 de la Comisión de 11 de junio de 2013 que modifica el Reglamento (UE) No 432/2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2013d). Reglamento (UE) No 851/2013 de la Comisión de 3 de septiembre de 2013 por el que se autorizan determinadas declaraciones de propiedades saludables en los alimentos, distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y se modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2013e). Reglamento (UE) No 1018/2013 de la Comisión de 23 de octubre de 2013 que modifica el Reglamento (UE) No 432/2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los

alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2014a). Decisión de ejecución de la Comisión de 8 de diciembre de 2014 por la que se autoriza la comercialización de aceite de chía (*Salvia hispanica*) como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) no 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2014b). Reglamento (UE) No 40/2014 de la Comisión de 17 de enero de 2014 por el que se autoriza una declaración relativa a las propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y se modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2015a). Reglamento (UE) 2015/7 de la Comisión de 6 de enero de 2015 que autoriza una declaración de propiedades saludables de los alimentos distinta de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2015b). Reglamento (UE) 2015/539 de la Comisión de 31 de marzo de 2015 por el que se autoriza una declaración relativa a las propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y se modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2015c). Reglamento (UE) 2015/2314 de la Comisión de 7 de diciembre de 2015 por el que se autoriza una declaración relativa a las propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y se modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.

Comisión Europea. (2016a). Programa de adecuación y eficacia de la reglamentación. Resolución del Parlamento Europeo, de 12 de abril de 2016, sobre el Programa de adecuación y eficacia de la reglamentación (REFIT): situación actual y perspectivas (2014/2150(INI)). Apartado 47. Estrasburgo: Parlamento Europeo.

Comisión Europea. (2016b). Reglamento (UE) 2016/1413 de la Comisión de 24 de agosto de 2016 que modifica el Reglamento (UE) No 432/2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los

- alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2016c). Reglamento de ejecución (UE) 2016/854 de la Comisión de 30 de mayo de 2016 por el que se autorizan determinadas declaraciones de propiedades saludables en los alimentos, distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños y se modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2017a). Reglamento de ejecución (UE) 2017/672 de la Comisión de 7 de abril de 2017 por el que se autoriza una declaración relativa a las propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y se modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Comisión Europea. (2017b). Reglamento de ejecución (UE) 2017/676 de la Comisión de 10 de abril de 2017 por el que se autoriza una declaración relativa a las propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y se modifica el Reglamento (UE) No 432/2012. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Coorey, R., Tjoe, A., y Jayasena, V. (2014). Gelling properties of chia seed and flour. *Journal of Food Science*, 79, E859-E866.
- Corino, C., Rossi, R., Cannata, S., y Ratti, S. (2014). Effect of dietary linseed on the nutritional value and quality of pork and pork products: Systematic review and meta-analysis. *Meat Science*, 98, 679-688.
- Costantini, L., Luksic, L., Molinari, R., Kreft, I., Bonafaccia, G., Manzi, L., y Merendino, N. (2014). Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chemistry*, 165, 232-240.
- Csapo, I., Incze, K., Kovacks, A., Zelenak, L., y Zsigo, J. (2006). Development of meat products with lutein for eye health. En D. Troy, R. Pearce, B. Byrne, J. Kerry (Eds.). *52nd International Congress of Meat Science and Technology* (pp. 687-688). The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
- D'Adamo, C. R. y Sahin, A. (2014). Soy foods and supplementation: A review of commonlyperceveid health benefits and risks. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 20, 39-51.

- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 174-181.
- Dawkins, N. L., Gager, J., Cornillon, J. P., Kim, Y., Howard, H., y Phelps, O. (2001). Comparative studies on the physicochemical properties and hydration behavior of oat gum and oatrim in meat-based patties. *Journal of Food Science*, 66, 1276-1282.
- de Almada, C. N., Almada, C. N., Martínez, R. C. R., y Sant'Ana, A. S. (2016). Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 96-114.
- de Falco, B., Amato, M., y Lanzotti, V. (2017). Chia seeds products: an overview. *Phytochemistry Reviews*. DOI: 10.1007/s11101-017-9511-7.
- de Smet, S., y Vossen, E. (2016). Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science*, 120, 145-156.
- Decker, E. A., y Park, Y. (2010). Healthier meat products as functional foods. *Meat Science*, 86, 49-55.
- Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., y Jiménez-Colmenero, F. (2010a). Healthier lipid combination as functional ingredient influencing sensory and technological properties of low-fat frankfurters. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 859-870.
- Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., y Jiménez-Colmenero, F. (2010b). Healthier lipid combination oil-in-water emulsions prepared with various protein systems: an approach for development of functional meat products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 791-801.
- Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., Triki, M., y Jiménez-Colmenero, F. (2011). Low-fat frankfurters formulated with a healthier lipid combination as functional ingredient: Microstructure, lipid oxidation, nitrite content, microbiological changes and biogenic amine formation. *Meat Science*, 89, 65-71.
- Demeyer, D., Honikel, K., y de Smet, S. (2008). The world cancer research fund report 2007: A challenge for the meat processing industry. *Meat Science*, 80, 953-959.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.



- Desmond, E. M., Troy, D. J., y Buckley, D. J. (1998a). Comparative studies of nonmeat adjuncts used in the manufacture of low-fat beef burgers. *Journal of Muscle Foods*, 9, 221-241.
- Desmond, E. M., Troy, D. J., y Buckley, D. J. (1998b). The effects of tapioca starch, oat fibre and whey protein on the physical and sensory properties of low-fat beef burgers. *LWT - Food Science and Technology*, 31, 653-657.
- Dev, A., Chodankar, R., y Shelke, O. (2015). Emulgels: a novel topical drug delivery system. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*, 2, 64-75.
- Dick, M., Costa, T. M. H., Gomaa, A., Subirade, M., Rios, A. D., y Flores, S. H. (2015). Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, 130, 198-205.
- Dick, M., Pagno, C. H., Haas Costa, T. M., Gomaa, A., Subirade, M., Rios, A. d. O., y Flores, S. H. (2016). Edible films based on chia flour: Development and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 133, artículo nº 42455.
- Dickinson, E. (2006). Structure formation in casein-based gels, foams, and emulsions. *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects*, 288, 3-11.
- Dickinson, E. (2011). Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*, 6, 1-11.
- Dickinson, E. (2012). Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids*, 28, 224-241.
- Dickinson, E. (2013). Stabilising emulsion-based colloidal structures with mixed food ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 710-721.
- Dickinson, E., y James, J. D. (1998). Rheology and flocculation of high-pressure-treated beta-lactoglobulin-stabilized emulsions: Comparison with thermal treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2565-2571.
- Dickinson, E., y López, G. (2001). Comparison of the emulsifying properties of fish gelatin and commercial milk proteins. *Journal of Food Science*, 66, 118-123.
- Dickinson, E., y Yamamoto, Y. (1996). Rheology of milk protein gels and protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1371-1377.
- Diplock, A. T., Aggett, P. J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E. B., y Roberfroid, M. B. (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe consensus document. *British Journal of Nutrition*, 81, S1-S27.

- Djordjevic, D., McClements, D. J., y Decker, E. A. (2004). Oxidative stability of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions at pH 3: Potential omega-3 fatty acid delivery systems (Part B). *Journal of Food Science*, 69, C356-C362.
- do Amaral, D. S., Cardelle-Cobas, A., do Nascimento, B. M. S., Monteiro, M. J., Madruga, M. S., y Pintado, M. M. E. (2015). Development of a low fat fresh pork sausage based on chitosan with health claims: impact on the quality, functionality and shelf-life. *Food & Function*, 6, 2768-2778.
- Domazakis, E. S. (2005). Method for the production of meat products from entire muscular tissue and direct integration of olive oil. Patente GR1004991-B1.
- Domnariu, C. D., Cucu, A., y Furtunescu, F.L. (2013). World health Organization guidelines on salt intake in adults and children. *Acta Medica Transilvanica*, 2, 166-168.
- Doublier, J. L., y Wood, P. J. (1995). Rheological properties of aqueous-solutions of (1-3)(1-4)-beta-D-glucan from oats (*Avena sativa* L). *Cereal Chemistry*, 72, 335-340.
- Drakos, A., Doxastakis, G., y Kiosseoglou, V. (2007). Functional effects of lupin proteins in comminuted meat and emulsion gels. *Food Chemistry*, 100, 650-655.
- Dua, A., Agrawal, S., Singh, A., y Mahajan, R. (2016). Antioxidant and Antimicrobial Potential of Polyphenols from Foods. En N. Garg, S. M. Abdel-Aziz y A. Aeron (Eds.), *Microbes in Food and Health*, (pp. 43-63). Cham: Springer International Publishing.
- Duffy, N., Blonk, H. C. G., Beindorff, C. M., Cazade, M., Bot, A., y Duchateau, G. S. M. J. E. (2009). Organogel-based emulsion systems, micro-structural features and impact on in vitro digestion. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 86, 733-741.
- Duta, D. E., y Culetu, A. (2015). Evaluation of rheological, physicochemical, thermal, mechanical and sensory properties of oat-based gluten free cookies. *Journal of Food Engineering*, 162, 1-8.
- EFSA. (2005). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to nutrition claims concerning omega-3 fatty acids, monounsaturated fat, polyunsaturated fat and unsaturated fat. En *EFSA Panel on Dietetic Products, and Allergies* (pp. 1-29). Parma, Italy: European Food Safety Authority (EFSA).

- EFSA. (2009). Opinion of safety of "Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole Chia seeds" as a food ingredient. En *EFSA Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products* (pp. 1-26). European Food Safety Agency Journal (EFSA)..
- EFSA. (2010a). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. En *EFSA Panel on Dietetic Products, and Allergies* (pp. 1461-1568). Parma, Italy: European Food Safety Authority (EFSA).
- EFSA. (2010b). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. En *EFSA Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products* (pp. 1461-1568). European Food Safety Agency Journal (EFSA).
- ElMagoli, S. B., Laroia, S., y Hansen, P. M. T. (1996). Flavor and texture characteristics of low fat ground beef patties formulated with whey protein concentrate. *Meat Science*, 42, 179-193.
- Enser, M. (2000). Producing meat for healthy eating. En *Proceeding of the 46<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology*, Vol I, Buenos Aires. pp 124-129.
- Ertesvåg, H., y Valla, S. (1998). Biosynthesis and applications of alginates. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 85-91.
- Escudero, E., y González, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21, 61-72.
- Espeitx, E. B. (1999). La alimentación humana como objeto de estudio para la antropología: posibilidades y limitaciones. *AREAS. Revista de Ciencias Sociales*, 19, 137-152.
- Estevez, M., Ventanas, S., y Cava, R. (2005). Physicochemical properties and oxidative stability of liver pate as affected by fat content. *Food Chemistry*, 92, 449-457.
- FAO (2012). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Consulta de expertos. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT). Granada.
- FAO (2015). Food Outlook. Global market analysis. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO). Ontario, Canada
- FDA (1997). Food Labelling: health Claims; oats and coronary heart disease. Final Rule. Food and Drug Administration (FDA), Department of Health and Human Services, pp. 3583-3601.
- Feldman, E. B. (2002). The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary heart disease. *Journal of Nutrition*, 132, 1062S-1101S.
- Felisberto, M. H. F., Wahanik, A. L., Gomes-Ruffi, C. R., Clerici, M., Chang, Y. K., y Steel, C. J. (2015). Use of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes. *Lwt-Food Science and Technology*, 63, 1049-1055.
- Felix, M., Romero, A., y Guerrero, A. (2017). Viscoelastic properties, microstructure and stability of high-oleic O/W emulsions stabilised by crayfish protein concentrate and xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 64, 9-17.
- FEN (2012). Valoración Nutricional de la Dieta Española de acuerdo al Panel de Consumo Alimentario. Fundación Española de la Nutrición (FEN).
- FEN (2013). Libro blanco de la nutrición en España. Fundación Española de la Nutrición (FEN).
- Ferguson, L. R. (2010). Meat and cancer. *Meat Science*, 84, 308-313.
- Fernández-López, J., Fernández-Ginés, J. M., Aleson-Carbonell, L., Sendra, E., Sayas-Barbera, E., y Pérez-Álvarez, J. A. (2004). Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 176-185.
- Fouladkhah, A., Berlin, D., y Bruntz, D. (2015). High-sodium processed foods: public health burden and sodium reduction strategies for industry practitioners. *Food Reviews International*, 31, 341-354.
- Freire, M., Bou, R., Cofrades, S., Solas, M. T., y Jiménez-Colmenero, F. (2016). Double emulsions to improve frankfurter lipid content: impact of perilla oil and pork backfat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 900-908.
- French, P., Stanton, C., Lawless, F., O'Riordan, E. G., Monahan, F. J., Caffrey, P. J., y Moloney, A. P. (2000). Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *Journal of Animal Science*, 78, 2849-2855.

- Friedman, M., y Brandon, D. L. (2001). Nutritional and health benefits of soy proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1069-1086.
- Gacesa, P. (1988). Alginates. *Carbohydrate Polymers*, 8, 161-182.
- Gámez, M. C., Calvo, M. M., Selgas, M. D., García, M. L., Erler, K., Boehm, V., Catalano, A., Simone, R., y Palozza, P. (2014). Effect of e-beam treatment on the chemistry and on the antioxidant activity of lycopene from dry tomato peel and tomato powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1557-1563.
- García-García, E., y Totosa, A. (2008). Low-fat sodium-reduced sausages: Effect of the interaction between locust bean gum, potato starch and kappa-carrageenan by a mixture design approach. *Meat Science*, 78, 406-413.
- García-Iniguez de Ciriano, M., Larequi, E., Rehecho, S., Calvo, M. I., Yolanda Cavero, R., Navarro-Blasco, I., Astiasarán, I., y Ansorena, D. (2010). Selenium, iodine, omega-3 PUFA and natural antioxidant from *Melissa officinalis* L.: A combination of components from healthier dry fermented sausages formulation. *Meat Science*, 85, 274-279.
- García, B. M. C., Carballo, B., de Torre, G. L., y Vicente, A. M. (2001). Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. AMV Ediciones, Mundi-Prensa.
- García, M. L., Cáceres, E., y Selgas, M. D. (2006). Effect of inulin on the textural and sensory properties of mortadella, a Spanish cooked meat product. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1207-1215.
- García, M. L., Domínguez, R., Gálvez, M. D., Casas, C., y Selgas, M. D. (2002). Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60, 227-236.
- Garg, M. L., Wood, L. G., Singh, H., y Moughan, P. J. (2006). Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. *Journal of Food Science*, 71, R66-R71.
- Gaull, G. E. (1989). Taurine in pediatric nutrition - review and update. *Pediatrics*, 83, 433-442.
- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., y Georgakis, S. A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, 76, 172-181.

- Giarnetti, M., Paradiso, V. M., Caponio, F., Summo, C., & Pasqualone, A. (2015). Fat replacement in shortbread cookies using an emulsion filled gel based on inulin and extra virgin olive oil. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 339-345.
- Gnanasambandam, R., y Zayas, J. F. (1992). Functionality of wheat-germ protein in comminuted meat-products as compared with corn germ and soy proteins. *Journal of Food Science*, 57, 829-833.
- GOED. (2016). Global recommendations for EPA and DHA intake. <http://www.goedomega3.com/>
- Goh, K. K. T., Matia-Merino, L., Chiang, J. H., Quek, R., Soh, S. J. B., y Lentle, R. G. (2016). The physico-chemical properties of chia seed polysaccharide and its microgel dispersion rheology. *Carbohydrate Polymers*, 149, 297-307.
- Goldstein, A., y Seetharaman, K. (2011). Effect of a novel monoglyceride stabilized oil in water emulsion shortening on cookie properties. *Food Research International*, 44, 1476-1481.
- Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. E., y Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25, 1813-1827.
- Gómez-Guillén, M. C., Turnay, J., Fernández-Díaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., y Montero, P. (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16, 25-34.
- Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., y Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations - egg-box model. *Febs Letters*, 32, 195-198.
- Grasso, S., Brunton, N. P., Lyng, J. G., Lalor, F., y Monahan, F. J. (2014). Healthy processed meat products - Regulatory, reformulation and consumer challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 39, 4-17.
- Guan, X., Yao, H., Chen, Z., Shan, L., y Zhang, M. (2007). Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by trypsin. *Food Chemistry*, 101, 163-170.
- Guiotto, E. N., Capitani, M. I., Nolasco, S. M., y Tomás, M. C. (2016). Stability of oil-in-water emulsions with sunflower (*Helianthus annuus* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) by-products. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 93, 133-143.

- Guo, Q., Ye, A., Lad, M., Dalgleish, D., y Singh, H. (2016). Impact of colloidal structure of gastric digesta on in-vitro intestinal digestion of whey protein emulsion gels. *Food Hydrocolloids*, 54, Part B, 255-265.
- Gupta, S., Cox, S., y Abu-Ghannam, N. (2010). Process optimization for the development of a functional beverage based on lactic acid fermentation of oats. *Biochemical Engineering Journal*, 52, 199-204.
- Haak, L., Raes, K., y De Smet, S. (2009). Effect of plant phenolics, tocopherol and ascorbic acid on oxidative stability of pork patties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1360-1365.
- Habeanu, M., Thomas, A., Bispo, E., Gobert, M., Gruffat, D., Durand, D., y Bauchart, D. (2014). Extruded linseed and rapeseed both influenced fatty acid composition of total lipids and their polar and neutral fractions in longissimus thoracis and semitendinosus muscles of finishing Normand cows. *Meat Science*, 96, 99-107.
- Hadnađev, M., Dapčević Hadnađev, T., Dokić, L., Pajin, B., Torbica, A., Šarić, L., y Ikonić, P. (2014). Physical and sensory aspects of maltodextrin gel addition used as fat replacers in confectionery filling systems. *LWT - Food Science and Technology*, 59, 495-503.
- Hager, A. S., Czerny, M., Bez, J., Zannini, E., y Arendt, E. K. (2013). Starch properties, in vitro digestibility and sensory evaluation of fresh egg pasta produced from oat, teff and wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 58, 156-163.
- Hargrave-Barnes, K. M., Azain, M. J., y Miner, J. L. (2008). Conjugated linoleic acid-induced fat loss dependence Delta 6-desaturase or cyclooxygenase. *Obesity*, 16, 2245-2252.
- He, M. L., Mir, P. S., Sharma, R., Schwartzkopf-Genswein, K. A., Entz, T., Travis, G., Dugan, M. E. R., Rolland, D., Okine, E. K., y Dodson, M. V. (2011). Effect of supplementation of beef steer diets with oil containing n6 and n3 fatty acids and 48 h feed withdrawal treatments on animal productivity, carcass characteristics and fatty acid composition. *Livestock Science*, 142, 253-263.
- Hernández-Jardón, G. (2007). Proteínas de chía (Salvia hispánica L): Estudio para valorar sus propiedades como formadoras de películas. UNAM, México.
- Hernández, E. M., y Kamal-Eldin, A. (2013). Processing and nutrition of fats and oils. Oxford, UK: John Wiley & Sons.

- Herrero, A. M., Carmona, P., Jiménez-Colmenero, F., y Ruiz-Capillas, C. (2014a). Polysaccharide gels as oil bulking agents: Technological and structural properties. *Food Hydrocolloids*, 36, 374-381.
- Herrero, A. M., Carmona, P., Pintado, T., Jiménez-Colmenero, F., y Ruiz-Capillas, C. (2011a). Olive oil-in-water emulsions stabilized with caseinate: Elucidation of protein-lipid interactions by infrared spectroscopy. *Food Hydrocolloids*, 25, 12-18.
- Herrero, A. M., Carmona, P., Pintado, T., Jiménez-Colmenero, F., & Ruíz-Capillas, C. (2011b). Infrared spectroscopic analysis of structural features and interactions in olive oil-in-water emulsions stabilized with soy protein. *Food Research International*, 44, 360-366.
- Herrero, A. M., Carmona, P., Pintado, T., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2012). Lipid and protein structure analysis of frankfurters formulated with olive oil-in-water emulsion as animal fat replacer. *Food Chemistry*, 135, 133-139.
- Herrero, A. M., Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F., & Carmona, P. (2014b). Raman spectroscopic study of structural changes upon chilling storage of frankfurters containing olive oil bulking agents as fat replacers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5963-5971.
- Hibbeln, J. R., Nieminen, L. R. G., Blasbalg, T. L., Riggs, J. A., y Lands, W. E. M. (2006). Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimations considering worldwide diversity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1483S-1493S.
- Higgs, J. D. (2000). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 85-95.
- Hoogenkamp, H. W. (1989). Low-calorie sausages, spreads and mousses. *Fleischerei*, 40, IV-V, (12) III-IV.
- Howarth, N. C., Saltzman, E., y Roberts, S. B. (2001). Dietary fiber and weight regulation. *Nutrition Reviews*, 59, 129-139.
- Hruskova, M., y Svec, I. (2015). Chemical, rheological and bread characteristics of wheat flour influenced by different forms of chia (*Salvia hispanica* L.). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27, 872-877.
- Hsu, S. Y., & Chung, H. Y. (1999). Comparisons of 13 edible gum-hydrate fat substitutes for low fat Kung-wan (an emulsified meatball). *Journal of Food Engineering*, 40, 279-285.



- Hsu, S. Y., & Sun, L. Y. (2006). Comparisons on 10 non-meat protein fat substitutes for low-fat Kung-wans. *Journal of Food Engineering*, 74, 47-53.
- Huang, C. L., y Sumpio, B. E. (2008). Olive oil, the Mediterranean diet, and cardiovascular health. *Journal of the American College of Surgeons*, 207, 407-416.
- Huang, S. C., Tsai, Y. F., y Chen, C. M. (2011). Effects of Wheat Fiber, Oat Fiber, and Inulin on Sensory and Physico-chemical Properties of Chinese-style Sausages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24, 875-880.
- Huang, X., Kakuda, Y., y Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15, 533-542.
- Hughes, E., Cofrades, S., y Troy, D. J. (1997). Effects of fat level, oat fibre and carrageenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. *Meat Science*, 45, 273-281.
- Hughes, E., Mullen, A. M., y Troy, D. J. (1998). Effects of fat level, tapioca starch and whey protein on frankfurters formulated with 5 % and 12 % fat. *Meat Science*, 48, 169-180.
- Hughes, N. E., Marangoni, A. G., Wright, A. J., Rogers, M. A., y Rush, J. W. E. (2009). Potential food applications of edible oil organogels. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 470-480.
- Hygreeva, D., Pandey, M. C., y Radhakrishna, K. (2014). Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. *Meat Science*, 98, 47-57.
- Iglesias-Puig, E., y Haros, M. (2013). Evaluation of performance of dough and bread incorporating chia (*Salvia hispanica* L.). *European Food Research and Technology*, 237, 865-874.
- ILSI. (2004). Conceptos sobre los alimentos funcionales. *International Life Sciences Institute*, ILSI.
- ILSI. (2006). Fibra Dietética. Definición, análisis, fisiología y salud. *International Life Sciences Institute*, ILSI.
- ILSI. (2013). Probiotics, prebiotics and the gut microbiota. *International Life Sciences Institute*, ILSI.
- Instituto de Salud Pública. (2005). El aceite de oliva y la dieta mediterránea. En J.A. Pinto, J.R. Martínez, (Eds.). Madrid: Dirección General de Salud Pública y Alimentación. Consejería de Sanidad y Consumo.

- Ixtaina, V. Y. (2010). Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas, Buenos Aires, Argentina.
- Janatuinen, E. K., Kemppainen, T. A., Julkunen, R. J. K., Kosma, V. M., Maki, M., Heikkinen, M., y Uusitupa, M. I. J. (2002). No harm from five year ingestion of oats in coeliac disease. *Gut*, 50, 332-335.
- Janatuinen, E. K., Pikkarainen, P. H., Kemppainen, T. A., Kosma, V. M., Jarvinen, R. M. K., Uusitupa, M. I. J., y Julkunen, R. J. K. (1995). A comparison of diets with and without oats in adults with celiac-disease. *New England Journal of Medicine*, 333, 1033-1037.
- Jang, A., Bae, W., Hwang, H.-S., Lee, H. G., y Lee, S. (2015). Evaluation of canola oil oleogels with candelilla wax as an alternative to shortening in baked goods. *Food Chemistry*, 187, 525-529.
- Jarvis, N., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., y Crandall, P. G. (2015). The functionality of plum ingredients in meat products: A review. *Meat Science*, 102, 41-48.
- Jaturasitha, S., Chaiwang, N., Kayan, A., y Kreuzer, M. (2016). Nutritional strategies to improve the lipid composition of meat, with emphasis on Thailand and Asia. *Meat Science*, 120, 157-166.
- Javidipour, I., Vural, H., Ozbas, O. O., & Tekin, A. (2005). Effects of interesterified vegetable oils and sugar beet fibre on the quality of Turkish-type salami. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 177-185.
- Jaworska, D., Czauderna, M., Przybylski, W., & Rozbicka-Wieczorek, A. J. (2016). Sensory quality and chemical composition of meat from lambs fed diets enriched with fish and rapeseed oils, carnosic acid and seleno-compounds. *Meat Science*, 119, 185-192.
- JECFA. (2002). Evaluation of certain food additives and contaminants. Fifty-ninth report of the Joint FAO/WHO Experts Committee on Food Additives. *WHO technical reports series* (pp. 20-32).
- Jeng, C. Y., Ockerman, H. W., Cahill, V. R., y Peng, A. C. (1988). Influence of substituting 2 levels of tofu for fat in a cooked comminuted meat-type product. *Journal of Food Science*, 53, 97-101.
- Jiménez-Colmenero, F. (1996). Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 41-48.

- Jiménez Colmenero, F. (2000). Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 56-66.
- Jiménez-Colmenero, F. (2001). Meat and meat products as functional foods. *Eurocarne*, 11, 49-59.
- Jiménez-Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 567-578.
- Jiménez-Colmenero, F. (2013). Multiple emulsions; bioactive compounds and functional foods. *Nutrición Hospitalaria*, 28, 1413-1421.
- Jiménez-Colmenero, F., Barreto, G., Mota, N., y Carballo, J. (1995a). Influence of protein and fat-content and cooking temperature on texture and sensory evaluation of bologna sausage. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28, 481-487.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., y Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59, 5-13.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., y Solas, M. T. (1995b). The effect of use of freeze-thawed pork on the properties of Bologna sausages with two fat levels. *International Journal of Food Science & Technology*, 30, 335-345.
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., Herrero, A. M., Fernández-Martín, F., Rodríguez-Salas, L., y Ruiz-Capillas, C. (2012). Konjac gel fat analogue for use in meat products: Comparison with pork fats. *Food Hydrocolloids*, 26, 63-72.
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., Herrero, A. M., Solas, M. T., y Ruiz-Capillas, C. (2013). Konjac gel for use as potential fat analogue for healthier meat product development: Effect of chilled and frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 30, 351-357.
- Jiménez Colmenero, F., Cofrades, S., Herrero, A. M., y Ruiz-Capillas Pérez, C. (2017). Implications of domestic food practices for the presence of bioactive components in meats with special reference to meat-based functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. DOI 10.1080/10408398.2017.1322937
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Pintado, T., y Solas, M. T. (2010a). Technological and sensory characteristics of reduced/low-fat, low-salt frankfurters as affected by the addition of konjac and seaweed. *Meat Science*, 84, 356-363.

- Jiménez-Colmenero, F., y Delgado-Pando, G. (2013). Fibre-enriched meat products. En J. Delcour y K. Poutanen (Eds.), *Fibre-rich and wholegrain foods. Improving quality*, (pp. 329-347). Woodhead Publishing.
- Jiménez-Colmenero, F., Herrero, A., Cofrades, S., y Ruiz-Capillas, C. (2011). Meat and functional foods. En Y. H. Hui (Ed.), *Handbook of Meat and Meat Processing*, (pp. 225-248). John Wiley & Son.
- Jiménez-Colmenero, F., Pintado, T., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., & Bastida, S. (2010b). Production variations of nutritional composition of commercial meat products. *Food Research International*, 43, 2378-2384.
- Jiménez-Colmenero, F., Salcedo-Sandoval, L., Bou, R., Cofrades, S., Herrero, A. M., y Ruiz-Capillas, C. (2015). Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44, 177-188.
- Jiménez-Colmenero, F., Triki, M., Herrero, A. M., Rodríguez-Salas, L., y Ruiz-Capillas, C. (2013). Healthy oil combination stabilized in a konjac matrix as pork fat replacement in low-fat, PUFA-enriched, dry fermented sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 51, 158-163.
- Jiménez-Martín, E., Rojas, T. A., Gharsallaoui, A., Carrascal, J. R., y Pérez-Palacios, T. (2016). Fatty acid composition in double and multilayered microcapsules of omega-3 as affected by storage conditions and type of emulsions. *Food Chemistry*, 194, 476-486.
- Jin, H., Xu, C.-X., Lim, H.-T., Park, S.-J., Shin, J.-Y., Chung, Y.-S., Park, S.-C., Chang, S.-H., Youn, H.-J., Lee, K.-H., Lee, Y.-S., Ha, Y.-C., Chae, C.-H., Beck, G. R., Jr., y Cho, M.-H. (2009). High Dietary Inorganic Phosphate Increases Lung Tumorigenesis and Alters Akt Signaling. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 179, 59-68.
- Josquin, N. M., Linssen, J. P. H., y Houben, J. H. (2012). Quality characteristics of Dutch-style fermented sausages manufactured with partial replacement of pork back-fat with pure, pre-emulsified or encapsulated fish oil. *Meat Science*, 90, 81-86.
- Jridi, M., Abdelhedi, O., Souissi, N., Kammoun, M., Nasri, M., y Ayadi, M. A. (2015). Improvement of the physicochemical, textural and sensory properties of meat sausage by edible cuttlefish gelatin addition. *Food Bioscience*, 12, 67-72.

- Julio, L. M., Ixtaina, V. Y., Fernández, M., Torres Sánchez, R. M., Nolasco, S. M., y Tomás, M. C. (2016). Development and characterization of functional O/W emulsions with chia seed (*Salvia hispanica* L.) by-products. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 3206-3214.
- Junter, G. A., y Vinet, F. (2009). Compressive properties of yeast cell-loaded Ca-alginate hydrogel layers: Comparison with alginate-CaCO<sub>3</sub> microparticle composite gel structures. *Chemical Engineering Journal*, 145, 514-521.
- Kalinga, D., y Mishra, V. K. (2009). Rheological and physical properties of low fat cakes produced by addition of cereal  $\beta$ -glucan concentrates. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33, 384-400.
- Kantar World Panel. (2016). Brand Foot Print. <https://www.kantarworldpanel.com/brand-footprint-ranking/#/>.
- Karim, A. A., y Bhat, R. (2008). Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 644-656.
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., y Adhikari, B. (2015). Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of Functional Foods*, 19, 868-881.
- Keenan, D. F., Resconi, V. C., Kerry, J. P., y Hamill, R. M. (2014). Modelling the influence of inulin as a fat substitute in comminuted meat products on their physico-chemical characteristics and eating quality using a mixture design approach. *Meat Science*, 96, 1384-1394.
- Keenan, D. F., Resconi, V. C., Smyth, T. J., Botinestean, C., Lefranc, C., Kerry, J. P., y Hamill, R. M. (2015). The effect of partial-fat substitutions with encapsulated and unencapsulated fish oils on the technological and eating quality of beef burgers over storage. *Meat Science*, 107, 75-85.
- Kerr, W. L., Wang, X., y Choi, S. G. (2005). Physical and sensory characteristics of low-fat italian sausage prepared with hydrated oat. *Journal of Food Quality*, 28, 62-77.
- Kinsella, J. E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56, 242-258.
- Klose, C., y Arendt, E. K. (2012). Proteins in Oats; their Synthesis and Changes during Germination: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 629-639.

- Kolanowski, W., y Berger, S. (1999). Possibilities of fish oil application for food products enrichment with omega-3 PUFA. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(1), 39-49.
- Kong, B., Zhang, H., y Xiong, Y. L. (2010). Antioxidant activity of spice extracts in a liposome system and in cooked pork patties and the possible mode of action. *Meat Science*, 85, 772-778.
- Koutsopoulos, D. A., Koutsimanis, G. E., y Bloukas, J. G. (2008). Effect of carrageenan level and packaging during ripening on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages produced with olive oil. *Meat Science*, 79, 188-197.
- Kristam, P., Eswarapragada, N. M., Bandi, E. R., y Tumati, S. R. (2016). Evaluation of edible polymer coatings enriched with green tea extract on quality of chicken nuggets. *Veterinary World*, 9, 685-692.
- Kuraishi, C., Yamazaki, K., y Susa, Y. (2001). Transglutaminase: Its utilization in the food industry. *Food Reviews International*, 17, 221-246.
- Kurth, L., y Rogers, P. J. (1984). Transglutaminase catalyzed cross-linking of myosin to soya protein, casein and gluten. *Journal of Food Science*, 49, 573-&.
- Lai, L. X., Kang, J. X., Li, R. F., Wang, J. D., Witt, W. T., Yong, H. Y., Hao, Y. H., Wax, D. M., Murphy, C. N., Rieke, A., Samuel, M., Linville, M. L., Korte, S. W., Evans, R. W., Starzl, T. E., Prather, R. S., y Dai, Y. F. (2006). Generation of cloned transgenic pigs rich in omega-3 fatty acids. *Nature Biotechnology*, 24, 435-436.
- Laine, P., Toppinen, E., Kivela, R., Taavitsainen, V. M., Knuutila, Sontag-Strohm, T., Jouppila, K., y Lopenen, J. (2011). Emulsion preparation with modified oat bran: Optimization of the emulsification process for microencapsulation purposes. *Journal of Food Engineering*, 104, 538-547.
- Lasztity, R. (1998). Oat grain - A wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances. *Food Reviews International*, 14, 99-119.
- Layman, D. K., Clifton, P., Gannon, M. C., Krauss, R. M., y Nuttall, F. Q. (2008). Protein in optimal health: heart disease and type 2 diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, 1571S-1575S.
- Lazaridou, A., y Biliaderis, C. G. (2007). Molecular aspects of cereal beta-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science*, 46, 101-118.

- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., y Izydorczyk, M. S. (2003). Molecular size effects on rheological properties of oat  $\beta$ -glucans in solution and gels. *Food Hydrocolloids*, 17, 693-712.
- Lebret, B. (2008). Effects of feeding and rearing systems on growth, carcass composition and meat quality in pigs. *Animal*, 2, 1548-1558.
- Lee, M. R. F., Tweed, J. K. S., Kim, E. J., y Scollan, N. D. (2012). Beef, chicken and lamb fatty acid analysis - a simplified direct bimethylation procedure using freeze-dried material. *Meat Science*, 92, 863-866.
- Lee, S. H., Lefevre, T., Subirade, M., y Paquin, P. (2009). Effects of ultra-high pressure homogenization on the properties and structure of interfacial protein layer in whey protein-stabilized emulsion. *Food Chemistry*, 113, 191-195.
- Liu, L., Kerry, J. F., y Kerry, J. P. (2007). Application and assessment of extruded edible casings manufactured from pectin and gelatin/sodium alginate blends for use with breakfast pork sausage. *Meat Science*, 75, 196-202.
- Liu, M. N., Huffman, D. L., Egbert, W. R., McCaskey, T. A., y Liu, C. W. (1991). Soy protein and oil effects on chemical, physical and microbial stability of lean ground-beef patties. *Journal of Food Science*, 56, 906-912.
- Liu, R., Wang, N., Li, Q., y Zhang, M. (2015a). Comparative studies on physicochemical properties of raw and hydrolyzed oat  $\beta$ -glucan and their application in low-fat meatballs. *Food Hydrocolloids*, 51, 424-431.
- Liu, S. X., Singh, M., Wayman, A. E., Hwang, H.-S., y Phaner, M. (2015b). Reduction of omega-3 oil oxidation in stable emulsion of caseinate-omega-3 oil-oat beta-glucan. *Lwt-Food Science and Technology*, 62, 1083-1090.
- Liu, X., Chen, X.-W., Guo, J., Yin, S.-W., y Yang, X.-Q. (2016). Wheat gluten based percolating emulsion gels as simple strategy for structuring liquid oil. *Food Hydrocolloids*, 61, 747-755.
- Lock, A. L., Horne, C. A. M., Bauman, D. E., y Salter, A. M. (2005). Butter naturally enriched in conjugated linoleic acid and vaccenic acid alters tissue fatty acids and improves the plasma lipoprotein profile in cholesterol-fed hamsters. *Journal of Nutrition*, 135, 1934-1939.
- López-López, I., Bastida, S., Ruiz-Capillas, C., Bravo, L., Larrea, M. T., Sánchez-Muniz, F., Cofrades, S., y Jiménez-Colmenero, F. (2009a). Composition and antioxidant capacity of low-salt meat emulsion model systems containing edible seaweeds. *Meat Science*, 83, 492-498.

- López-López, I., Cofrades, S., Cañeque, V., Díaz, M. T., López, O., y Jiménez-Colmenero, F. (2011). Effect of cooking on the chemical composition of low-salt, low-fat Wakame/olive oil added beef patties with special reference to fatty acid content. *Meat Science*, 89, 27-34.
- López-López, I., Cofrades, S., y Jiménez-Colmenero, F. (2009b). Low-fat frankfurters enriched with n-3 PUFA and edible seaweed: Effects of olive oil and chilled storage on physicochemical, sensory and microbial characteristics. *Meat Science*, 83, 148-154.
- López-López, I., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., y Jiménez-Colmenero, F. (2009c). Design and nutritional properties of potential functional frankfurters based on lipid formulation, added seaweed and low salt content. *Meat Science*, 83, 255-262.
- Ludden, P. A., Kucuk, O., Rule, D. C., y Hess, B. W. (2009). Growth and carcass fatty acid composition of beef steers fed soybean oil for increasing duration before slaughter. *Meat Science*, 82, 185-192.
- Luhalo, M., Martensson, A. C., Andersson, R., y Aman, P. (1998). Compositional analysis and viscosity measurements of commercial oat brans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 142-148.
- Luruena-Martínez, M. A., Vivar-Quintana, A. M., y Revilla, I. (2004). Effect of locust bean/xanthan gum addition and replacement of pork fat with olive oil on the quality characteristics of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 68, 383-389.
- Lyons, P. H., Kerry, J. F., Morrissey, P. A., y Buckley, D. J. (1999). The influence of added whey protein/carrageenan gels and tapioca starch on the textural properties of low fat pork sausages. *Meat Science*, 51, 43-52.
- Ma, C. Y. (1985). Functional-properties of oat concentrate treated with linoleate or trypsin. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 18, 79-84.
- Ma, C. Y., y Khanzada, G. (1987). Functional-properties of deamidated oat protein isolates. *Journal of Food Science*, 52, 1583-1587.
- Malalgoda, M., y Simsek, S. (2017). Celiac disease and cereal proteins. *Food Hydrocolloids*, 68, 108-113.
- Mantovani, R. A., Cavallieri, Â. L. F., y Cunha, R. L. (2016). Gelation of oil-in-water emulsions stabilized by whey protein. *Journal of Food Engineering*, 175, 108-116.



- MAPAMA. (2012). Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. <http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/observatorio-de-consumo-y-la-distribucion-alimentaria/monograficos/> (último acceso, mayo 2017).
- MAPAMA. (2016). Informe del Consumo de Alimentación en España. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Marín-Flores, M. F. d. J., Acevedo-Mascarua, J., Cavada-Martínez, I. A., García-Romero, S. M., y Tamez-Ramírez, M. (2008). Method for producing meat products with a high nutritional value through the addition of *Salvia hispanica* L. Mexico, Inst. Tech. & de Estudios Superiores de Monterrey.
- Marlett, J. A. (1993). Comparisons of dietary fiber and selected nutrient compositions of oat bran and other grain fractions. En P. J. Wood (Ed.), *Oat bran*. St Paul: AACC International, Inc.
- Martínez-Cruz, O., y Paredes-López, O. (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1346, 43-48.
- Martirosyan, D. M., y Singh J. (2015). A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique? *Functional Foods Health and Disease*, 5, 209-223.
- Matiacevich, S., Acevedo, N., y López, D. (2015). Characterization of edible active coating based on alginate-thyme oil-propionic acid for the preservation of fresh chicken breast fillets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 2792-2801.
- Matsumura, Y., Kang, I. J., Sakamoto, H., Motoki, M., y Mori, T. (1993). Filler effects of oil droplets on the viscoelastic properties of emulsion gels. *Food Hydrocolloids*, 7, 227-240.
- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M. W., Bonham, M. P., y Fearon, A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84, 1-13.
- McClements, D. J. (1999). Food Emulsions. Principles, Practice and Techniques. Florida, USA: CRC Press LLC.
- McClements, D. J. (2005). Food emulsions: principles, practices, and techniques. Florida, USA: CRC Press LLC.

- McClements, D. J. (2012). Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17, 235-245.
- McClements, D. J., Monahan, F. J., y Kinsella, J. E. (1993). Effect of emulsion droplets on the rheology of whey-protein isolate gels. *Journal of Texture Studies*, 24, 411-422.
- McIntosh, G. H., Royle, P. J., Le Leu, R. K., Regester, G. O., Johnson, M. A., Grinsted, R. L., Kenward, R. S., y Smithers, G. W. (1998). Whey proteins as functional food ingredients? *International Dairy Journal*, 8, 425-434.
- Mehta, N., Ahlawat, S. S., Sharma, D. P., y Dabur, R. S. (2015a). Novel trends in development of dietary fiber rich meat products-a critical review. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52, 633-647.
- Mehta, N., Sharma, B. D., Kumar, R. R., Pavan, K., Prakash Malav, O., y Kumar Verma, A. (2015b). Fortification of low-fat chicken meat patties with calcium, vitamin E and vitamin C. *Nutrition and Food Science*, 45, 688-702.
- Meineri, G., Cornale, P., Tassone, S., y Peiretti, P. G. (2010). Effects of Chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplementation on rabbit meat quality, oxidative stability and sensory traits. *Italian Journal of Animal Science*, 9, 45-49.
- Mert, B., y Demirkesen, I. (2016). Reducing saturated fat with oleogel/shortening blends in a baked product. *Food Chemistry*, 199, 809-816.
- Meyer, B. J. (2011). Are we consuming enough long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids for optimal health? *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 85, 275-280.
- Mirvish, S. S. (1986). Effects of vitamin-c and vitamin-e on N-nitroso compound formation, carcinogenesis, and cancer. *Cancer*, 58, 1842-1850.
- Modi, V. K., Yashoda, K. P., Bhaskar, N., y Mahendrakar, N. S. (2009a). Effect of carrageenan and oat flour on storage characteristics of fried mutton kofta. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33, 763-776.
- Modi, V. K., Yashoda, K. P., y Naveen, S. K. (2009b). Effect of carrageenan and oat flour on quality characteristics of meat kofta. *International Journal of Food Properties*, 12, 228-242.
- Mora-Gallego, H., Dolors Guardia, M., Serra, X., Gou, P., y Arnau, J. (2016). Sensory characterisation and consumer acceptability of potassium chloride and sunflower

- oil addition in small-caliber non-acid fermented sausages with a reduced content of sodium chloride and fat. *Meat Science*, 112, 9-15.
- Moreira, D. K. T., Santos, P. S., Gambero, A., y Macedo, G. A. (2017). Evaluation of structured lipids with behenic acid in the prevention of obesity. *Food Research International*, 95, 52-58.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., y Cuadrado, C. (2013). Tablas de composición de alimentos. Guía de prácticas (16 ed.). Pirámide.
- Moreno Conde, H. M. (2009). Reestructuración en frío de músculo de pescado mediante la incorporación de alginato sódico y transglutaminasa microbiana. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.
- Moroney, N. C., O'Grady, M. N., Lordan, S., Stanton, C., y Kerry, J. P. (2015). Seaweed polysaccharides (laminarin and fucoidan) as functional ingredients in pork meat: an evaluation of anti-oxidative potential, thermal stability and bioaccessibility. *Marine Drugs*, 13, 2447-2464.
- Motoki, M., y Nio, N. (1983). Crosslinking between different food proteins by transglutaminase. *Journal of Food Science*, 48, 561-566.
- MSPS/AESAN. (2010). Plan de reducción del consumo de sal. Menos sal es más salud. Ministerio de Sanidad y Política Social.
- Muñoz, L. A., Cobos, A., Díaz, O., y Aguilera, J. M. (2013). Chia Seed (*Salvia hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food. *Food Reviews International*, 29, 394-408.
- Muñoz, L. A., Cobos, A., Díaz, O., y Aguilera, J. M. (2012). Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of Food Engineering*, 108, 216-224.
- Navas-Carretero, S., Pérez-Granados, A. M., Sarria, B., y Vaquero, M. P. (2009). Iron absorption from meat pate fortified with ferric pyrophosphate in iron-deficient women. *Nutrition*, 25, 20-24.
- Nieto-Nieto, T. V., Wang, Y. X., Ozimek, L., y Chen, L. (2014). Effects of partial hydrolysis on structure and gelling properties of oat globular proteins. *Food Research International*, 55, 418-425.
- Nieto-Nieto, T. V., Wang, Y. X., Ozimek, L., y Chen, L. (2015). Inulin at low concentrations significantly improves the gelling properties of oat protein - A molecular mechanism study. *Food Hydrocolloids*, 50, 116-127.

- Nio, N., Motoki, M., y Takinami, K. (1986a). Gelation mechanism of protein solution by transglutaminase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50, 851-855.
- Nio, N., Motoki, M., y Takinami, K. (1986b). Gelation of protein emulsion by transglutaminase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50, 1409-1412.
- Nishinari, K., Fang, Y., Guo, S., y Phillips, G. O. (2014). Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloids*, 39, 301-318.
- Oatly (2017). <http://www.oatly.com/healthcareprofessionals/wp-content/uploads/2014/09/OatGrain.png>. (última visita, mayo 2017)
- OCDE-FAO. (2014). Mercado de Ganados y Carnes. Proyecciones 2023. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).
- Ockerman, H. W. (1976). Quality control of post-mortem muscle tissue. Ohio State University.
- Oezvural, E. B., y Vural, H. (2008). Utilization of interesterified oil blends in the production of frankfurters. *Meat Science*, 78, 211-216.
- Ojha, K. S., Keenan, D. F., Bright, A., Kerry, J. P., y Tiwari, B. K. (2016). Ultrasound assisted diffusion of sodium salt replacer and effect on physicochemical properties of pork meat. *International Journal of Food Science and Technology*, 51, 37-45.
- Oliveira, M. R., Novack, M. E., Santos, C. P., Kubota, E., y Rosa, C. S. d. (2015). Evaluation of replacing wheat flour with chia flour (*Salvia hispanica* L.) in pasta. *Semina: Ciencias Agrarias*, 36, 2545-2553.
- Olivos-Lugo, B. L., Valdivia-López, M. A., y Tecante, A. (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Food Science and Technology International*, 16, 89-96.
- Olmedilla-Alonso, B., y Jiménez-Colmenero, F. (2014). Functional meat products; development and evaluation of their health-promoting properties. *Nutrición Hospitalaria*, 29, 1197-1209.
- Olmedilla-Alonso, B., Jiménez-Colmenero, F., y Sánchez-Muñoz, F. J. (2013). Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science*, 95, 919-930.
- Omana, D. A., Plastow, G., y Betti, M. (2011a). Effect of different ingredients on color and oxidative characteristics of high pressure processed chicken breast meat

- with special emphasis on use of  $\beta$ -glucan as a partial salt replacer. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12, 244-254.
- Omana, D. A., Plastow, G., y Betti, M. (2011b). The use of  $\beta$ -glucan as a partial salt replacer in high pressure processed chicken breast meat. *Food Chemistry*, 129, 768-776.
- Ouwehand, A. C., Salminen, S., y Isolauri, E. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 82, 279-289.
- Öztürk, B., y Serdaroğlu, M. (2017). A rising star prebiotic dietary fiber: inulin and recent applications in meat products. *Journal of Food and Health Science*, 3, 12-20.
- Paddon-Jones, D., Westman, E., Mattes, R. D., Wolfe, R. R., Astrup, A., y Westerterp-Plantenga, M. (2008). Protein, weight management, and satiety. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, 1558S-1561S.
- Panagiotopoulou, E., Moschakis, T., y Katsanidis, E. (2016). Sunflower oil organogels and organogel-in-water emulsions (part II): Implementation in frankfurter sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 351-356.
- Paneras, E. D., y Bloukas, J. G. (1994). Vegetable-oils replace pork backfat for low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, 59, 725-&.
- Panyam, D., y Kilara, A. (1996). Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 120-125.
- Paradiso, V. M., Giarnetti, M., Summo, C., Pasqualone, A., Minervini, F., y Caponio, F. (2015). Production and characterization of emulsion filled gels based on inulin and extra virgin olive oil. *Food Hydrocolloids*, 45, 30-40.
- Pasqualin Cavalheiro, C., Ruiz-Capillas, C., Herrero, A. M., Jiménez-Colmenero, F., de Menezes, C. R., y Martins Fries, L. L. (2015). Application of probiotic delivery systems in meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 46, 120-131.
- Patel, A. R., Cludts, N., Bin Sintang, M. D., Lesaffer, A., y Dewettinck, K. (2014). Edible oleogels based on water soluble food polymers: preparation, characterization and potential application. *Food & Function*, 5, 2833-2841.
- Peiretti, P. G., y Meineri, G. (2008). Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Science*, 80, 1116-1121.

- Pelser, W. M., Linssen, J. P. H., Legger, A., y Houben, J. H. (2007). Lipid oxidation in n-3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Science*, 75, 1-11.
- Pena-Ramos, E. A., y Xiong, Y. L. L. (2003). Whey and soy protein, hydrolysates inhibit lipid oxidation in, cooked pork patties. *Meat Science*, 64, 259-263.
- Perez-Chabela, L. M., Diaz-Vela, J., Reyes-Menendez, C. V., y Totosa, A. (2013). Improvement of moisture stability and textural properties of fat and salt reduced cooked sausages by inoculation of thermotolerant lactic acid bacteria. *International Journal of Food Properties*, 16, 1789-1808.
- Pilli, T. d., Derossi, A., y Severini, C. (2013). Cooking quality characterisation of "spaghetti" based on soft wheat flour enriched with oat flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 48, 2348-2355.
- Pinero, M. P., Parra, K., Huerta-Leidenz, N., de Moreno, L. A., Ferrer, M., Araujo, S., y Barboza, Y. (2008). Effect of oat's soluble fibre (beta-glucan) as a fat replacer on physical, chemical, microbiological and sensory properties of low-fat beef patties. *Meat Science*, 80, 675-680.
- Piscopo, S. (2009). The Mediterranean diet as a nutrition education, health promotion and disease prevention tool. *Public Health Nutrition*, 12(9A), 1648-1655.
- Pizarro, P. L., Almeida, E. L., Coelho, A. S., Samman, N. C., Hubinger, M. D., y Chang, Y. K. (2015). Functional bread with n-3 alpha linolenic acid from whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52, 4475-4482.
- Poyato, C., Ansorena, D., Berasategi, I., Navarro-Blasco, I., y Astiasarán, I. (2014). Optimization of a gelled emulsion intended to supply omega-3 fatty acids into meat products by means of response surface methodology. *Meat Science*, 98, 615-621.
- Poyato, C., Astiasarán, I., Barriuso, B., y Ansorena, D. (2015). A new polyunsaturated gelled emulsion as replacer of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and sensory acceptability. *Lwt-Food Science and Technology*, 62, 1069-1075.
- Prasad, B., Rashmi, M. D., Yashoda, K. P., y Modi, V. K. (2011). Effect of casein and oat flour on physicochemical and oxidative processes of cooked chicken kofta. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(3), 359-368.

- Praznik, W., Loeppert, R., Viernstein, H., Haslberger, A.G., y Unger, F. M. (2015). Dietary fiber and prebiotics. En K. G. Ramawat, J.M. Mérillon, (Eds.), *Polysaccharides*, (pp. 891-925). Switzerland: Springer International Publishing.
- Pszczola, D. E. (1991). Oat-bran-based ingredient blend replaces fat in ground-beef and pork sausage. *Food Technology*, 45, 60-&.
- Puppo, M. C., Beaumal, V., Speroni, F., de Lamballerie, M., Añón, M. C., y Anton, M. (2011).  $\beta$ -Conglycinin and glycinin soybean protein emulsions treated by combined temperature-high-pressure treatment. *Food Hydrocolloids*, 25, 389-397.
- Rasane, P., Jha, A., Sabikhi, L., Kumar, A., y Unnikrishnan, V. S. (2015). Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - A review. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52, 662-675.
- Realini, C. E., Bianchi, G., Bentancur, O., y Garibotto, G. (2017). Effect of supplementation with linseed or a blend of aromatic spices and time on feed on fatty acid composition, meat quality and consumer liking of meat from lambs fed dehydrated alfalfa or corn. *Meat Science*, 127, 21-29.
- Resconi, V. C., Keenan, D. F., Barahona, M., Guerrero, L., Kerry, J. P., y Hamill, R. M. (2016). Rice starch and fructo-oligosaccharides as substitutes for phosphate and dextrose in whole muscle cooked hams: Sensory analysis and consumer preferences. *Lwt-Food Science and Technology*, 66, 284-292.
- Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., y Valdivia-López, M. A. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry*, 107, 656-663.
- Rivera Ruiz, I. N. (2012). Reducción de grasa y alternativas para su sustitución en productos cárnicos emulsionados, una revisión. *Nacameh*, 6, 1-14.
- Roberfroid, M. B. (2000). Defining functional foods. En G. R. Gibson y C. M. Williams (Eds.). *Functional foods. Concept to product*, (pp. 9-28). Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Robins, M. M. (2000). Lipid emulsions. *Grasas y Aceites*, 51, 26-34.
- Rodrigues, J. B., Paixao, J. A., Cruz, A. G., y Bolini, H. M. A. (2015). Chocolate milk with chia oil: ideal sweetness, sweeteners equivalence, and dynamic sensory evaluation using a time-intensity methodology. *Journal of Food Science*, 80, S2944-S2949.

- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., y Estévez, M. (2012). Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. *Meat Science*, 90, 106-115.
- Rogers, M. A., Strober, T., Bot, A., Toro-Vazquez, J. F., Stortz, T., y Marangoni, A. G. (2014). Edible oleogels in molecular gastronomy. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2, 22-31.
- Romero de Ávila, M. D., Ordóñez, J. A., de la Hoz, L., Herrero, A. M., y Cambero, M. I. (2010). Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham. *Meat Science*, 84, 747-754.
- Ronda, F., Perez-Quirce, S., Lazaridou, A., y Biliaderis, C. G. (2015). Effect of barley and oat beta-glucan concentrates on gluten-free rice-based doughs and bread characteristics. *Food Hydrocolloids*, 48, 197-207.
- Roopa, B. S., y Bhattacharya, S. (2010). Texturized alginate gels: Screening experiments to identify the important variables on gel formation and their properties. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1403-1408.
- Ros, E., López-Miranda, J., Picó, C., Rubio, M. A., Babio, N., Sala-Vila, A., Pérez-Jiménez, F., Escrich, E., Bulló, M., Solanas, M., Gil Hernández, A., y Salas-Salvadó, J. (2015). Consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta; postura de la Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y Dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 32, 435-477.
- Rubio, R., Jofre, A., Aymerich, T., Guardia, M. D., y Garriga, M. (2014). Nutritionally enhanced fermented sausages as a vehicle for potential probiotic lactobacilli delivery. *Meat Science*, 96, 937-942.
- Ruiz-Capillas, C., Carballo, J., y Jiménez Colmenero, F. (2007). Biogenic amines in pressurized vacuum-packaged cooked sliced ham under different chilled storage conditions. *Meat Science*, 75, 397-405.
- Ruiz-Capillas, C., Carmona, P., Jiménez-Colmenero, F., y Herrero, A. M. (2013). Oil bulking agents based on polysaccharide gels in meat batters: A Raman spectroscopic study. *Food Chemistry*, 141, 3688-3694.
- Ruiz-Capillas, C., Herrero, A. M., Tahmouzi, S., Razavi, S. H., Triki, M., Rodríguez-Salas, L., Samcova, K., & Jiménez-Colmenero, F. (2016). Properties of reformulated hot dog sausage without added nitrites during chilled storage. *Food Science and Technology International*, 22, 21-30.



- Ruiz-Capillas, C., y Jiménez-Colmenero, F. (2010). Effect of an argon-containing packaging atmosphere on the quality of fresh pork sausages during refrigerated storage. *Food Control*, 21, 1331-1337.
- Ruiz, J. N., Montes Villanueva, N. D., Silvia Favaro-Trindade, C., y Contreras-Castillo, C. J. (2014). Physicochemical, microbiological and sensory assessments of Italian salami sausages with probiotic potential. *Scientia Agricola*, 71, 204-211.
- Ruusunen, M., y Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70, 531-541.
- Ruusunen, M., Vainionpaa, J., Lyly, M., Lahteenmaki, L., Niemisto, M., Ahvenainen, R., y Puolanne, E. (2005). Reducing the sodium content in meat products: The effect of the formulation in low-sodium ground meat patties. *Meat Science*, 69, 53-60.
- Ryan, L., Thondre, P. S., y Henry, C. J. K. (2011). Oat-based breakfast cereals are a rich source of polyphenols and high in antioxidant potential. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 929-934.
- Sadeghi-Mehr, A., Lautenschlaeger, R., y Drusch, S. (2016). Sensory, physicochemical and microbiological properties of dry-cured formed ham: comparison of four different binding systems. *European Food Research and Technology*, 242, 1379-1391.
- Saeki, K., Matsumoto, K., Kinoshita, M., Suzuki, I., Tasaka, Y., Kano, K., Taguchi, Y., Mikami, K., Hirabayashi, M., Kashiwazaki, N., Hosoi, Y., Murata, N., y Iritani, A. (2004). Functional expression of a Delta 12 fatty acid desaturase gene from spinach in transgenic pigs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 6361-6366.
- Sagiri, S. S., Behera, B., Rafanan, R. R., Bhattacharya, C., Pal, K., Banerjee, I., y Rousseau, D. (2014). Organogels as matrices for controlled drug delivery: a review on the current state. *Soft Materials*, 12, 47-72.
- Sala, G., van Vliet, T., Stuart, M. C., van de Velde, F., y van Aken, G. A. (2009). Deformation and fracture of emulsion-filled gels: Effect of gelling agent concentration and oil droplet size. *Food Hydrocolloids*, 23, 1853-1863.
- Salazar-Vega, M. I., Rosado-Rubio, J. G., Chel-Guerrero, L. A., Betancur-Ancona, D. A., y Castellanos-Ruelas, A. F. (2009). Composition in alpha linolenic acid (omega(3)) of egg and broiler meat using chia (*Salvia hispanica* L.) in poultry feedstuff. *Interciencia*, 34, 209-213.

- Salazar, P., García, M. L., y Selgas, M. D. (2009). Short-chain fructooligosaccharides as potential functional ingredient in dry fermented sausages with different fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1100-1107.
- Salcedo-Sandoval, L., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Carballo, J., y Jiménez-Colmenero, F. (2015a). Konjac-based oil bulking system for development of improved-lipid pork patties: Technological, microbiological and sensory assessment. *Meat Science*, 101, 95-102.
- Salcedo-Sandoval, L., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., y Jiménez-Colmenero, F. (2015b). Filled hydrogel particles as a delivery system for n – 3 long chain PUFA in low-fat frankfurters: Consequences for product characteristics with special reference to lipid oxidation. *Meat Science*, 110, 160-168.
- Salcedo-Sandoval, L., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Solas, M. T., & Jiménez-Colmenero, F. (2013). Healthier oils stabilized in konjac matrix as fat replacers in n – 3 PUFA enriched frankfurters. *Meat Science*, 93, 757-766.
- Salcedo-Sandoval, L., Ruiz-Capillas, C., Cofrades, S., Triki, M., y Jiménez-Colmenero, F. (2015c). Shelf-life of n-3 PUFA enriched frankfurters formulated with a konjac-based oil bulking agent. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 711-717.
- Saldana, E., Lemos, A., Selani, M. M., Spada, F. P., de Almeida, M. A., y Contreras-Castillo, C. J. (2015). Influence of animal fat substitution by vegetal fat on Mortadella-type products formulated with different hydrocolloids. *Scientia Agricola*, 72, 495-503.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graue, A., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2013). Physicochemical characterization of lemongrass essential oil-alginate nanoemulsions: effect of ultrasound processing parameters. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 2439-2446.
- Sánchez-Muniz, F. J., García-Linares, M. C., García-Arias, M. T., Bastida, S., y Viejo, J. (2003). Fat and protein from olive oil-fried sardines interact to normalize serum lipoproteins and reduce liver lipids in hypercholesterolemic rats. *Journal of Nutrition*, 133, 2302-2308.
- Sánchez Muniz, F. J. (2007). Olive oil, life key in the Mediterranean area. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 73, 653-692.

- Sandoval-Oliveros, M. R., y Paredes-López, O. (2013). Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 193-201.
- Santhi, D., y Kalaikannan, A. (2014). The effect of the addition of oat flour in low-fat chicken nuggets. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 4, 260-264.
- Santhi, D., Kalaikannan, A., Malairaj, P., y Prabhu, S. A. (2017). Application of microbial transglutaminase in meat foods: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 2071-2076.
- Sato, A. C. K., Moraes, K. E. F. P., y Cunha, R. L. (2014). Development of gelled emulsions with improved oxidative and pH stability. *Food Hydrocolloids*, 34, 184-192.
- Scapin, G., Schimdt, M. M., Prestes, R. C., Ferreira, S., Silva, A. F. C., y Rosa, C. S. d. (2015). Effect of extract of chia seed (*Salvia hispanica*) as an antioxidant in fresh pork sausage. *International Food Research Journal*, 22, 1195-1202.
- Schoenfeldt, H. C., y Gibson, N. (2008). Changes in the nutrient quality of meat in an obesity context. *Meat Science*, 80, 20-27.
- Segura-Campos, M., Acosta-Chi, Z., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., y Betancur-Ancona, D. (2014). Whole and crushed nutlets of chia (*Salvia hispanica*) from Mexico as a source of functional gums. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 34, 701-709.
- Segura-Campos, M. R., Salazar-Vega, I. M., Chel-Guerrero, L. A., y Betancur-Ancona, D. A. (2013). Biological potential of chia (*Salvia hispanica* L.) protein hydrolysates and their incorporation into functional foods. *Lwt-Food Science and Technology*, 50, 723-731.
- Selgas, M. D., Cáceres, E., y García, M. L. (2005). Long-chain soluble dietary fibre as functional ingredient in cooked meat sausages. *Food Science and Technology International*, 11, 41-47.
- SENC. (2003). Guía de Alimentos Funcionales: Instituto Omega 3. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC).
- Serdaroglu, M. (2006). The characteristics of beef patties containing different levels of fat and oat flour. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 147-153.
- Serdaroglu, M., Nacak, B., Karabiyikoğlu, M., y Keser, G. (2016a). Effects of partial beef fat replacement with gelled emulsion on the functional and quality

- properties of model system meat emulsion. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36, 744-751.
- Serdaroğlu, M., Öztürk, B., y Urgu, M. (2016b). Emulsion characteristics, chemical and textural properties of meat systems produced with double emulsions as beef fat replacers. *Meat Science*, 117, 187-195.
- Serrano, A., Cofrades, S., y Jiménez-Colmenero, F. (2006). Characteristics of restructured beef steak with different proportions of walnut during frozen storage. *Meat Science*, 72, 108-115.
- Serrano, A., Cofrades, S., y Jiménez Colmenero, F. (2004). Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts. *Food Chemistry*, 85, 423-429.
- Serrano, A., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo, C., y Jiménez-Colmenero, F. (2005). Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, 70, 647-654.
- Serrano Morago, L., y Lezcano Martín, C. (2005). El aceite: valor nutritivo. En J. A. Pinto Fontanillo y J. R. Matínez Álvarez (Eds.), *El aceite de oliva y la dieta Mediterránea*. Alcobendas, Madrid: Servicio de Promoción de la Salud. Instituto de Salud Pública. Consejería de Sanidad y Consumo.
- Shahidi, F., y Synowiecki, J. (1997). Protein hydrolyzates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. *Food Chemistry*, 60, 29-32.
- Shapiro, Y. E. (2011). Structure and dynamics of hydrogels and organogels: An NMR spectroscopy approach. *Progress in Polymer Science*, 36, 1184-1253.
- Shen, R. I., Liu, X. Y., Dong, J. L., Si, J. L., y Li, H. (2015). The gel properties and microstructure of the mixture of oat beta-glucan/soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 47, 108-114.
- Shon, J., y Chin, K. B. (2008). Effect of whey protein coating on quality attributes of low-fat, aerobically packaged sausage during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 73, C469-C475.
- Silano, M., Dessi, M., De Vincenzi, M., y Cornell, H. (2007). In vitro tests indicate that certain varieties of oats may be harmful to patients with coeliac disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, 528-531.
- Silva, B. C. E., dos Santos, H. M. C., Montanher, P. F., Boeing, J. S., Almeida, V. D., y Visentainer, J. V. (2014). Incorporation of Omega-3 fatty acids in Nile tilapia

- (*Oreochromis niloticus*) fed chia (*Salvia hispanica* L.) bran. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 91, 429-437.
- Sin-Young, P., Gye-Woong, K., y Hack-Youn, K. (2016). Study on physicochemical properties of emulsion-type sausage added with pork skin gelatin. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 45, 209-214.
- Singh, V. K., Pandey, P. M., Agarwal, T., Kumar, D., Banerjee, I., Anis, A., y Pal, K. (2016). Development of soy lecithin based novel self-assembled emulsion hydrogels. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 55, 250-263.
- Siri-Tarino, P. W., Sun, Q., Hu, F. B., y Krauss, R. M. (2010). Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: Modulation by Replacement Nutrients. *Current Atherosclerosis Reports*, 12, 384-390.
- Skowrya, M., Janiewicz, U., Salejda, A. M., Krasnowska, G., y Almajano, M. P. (2015). Effect of tara (*Caesalpinia spinosa*) pod powder on the oxidation and colour stability of pork meat batter during chilled storage. *Food Technology and Biotechnology*, 53, 419-427.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5, 1417-1435.
- Sok Line, V. L., Remondetto, G. E., y Subirade, M. (2005). Cold gelation of  $\beta$ -lactoglobulin oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 19, 269-278.
- Soto, A. M., García, M. L., y Selgas, M. D. (2016). Technological and sensory properties of calcium-enriched dry fermented sausages: a study of the calcium bioavailability. *Journal of Food Quality*, 39, 476-486.
- Soto, A. M., García, M. L., y Selgas, M. D. (2015). Technological and sensory properties of hamburgers enriched with calcium study of the in vitro bioavailability. *Italian Journal of Food Science*, 27, 40-49.
- Souza, A. H. P., Gohara, A. K., Rotta, E. M., Chaves, M. A., Silva, C. M., Dias, L. F., Gomes, S. T. M., Souza, N. E., y Matsushita, M. (2015a). Effect of the addition of chia's by-product on the composition of fatty acids in hamburgers through chemometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 928-935.
- Souza, N. L. d., Bartz, J., Zavareze, E. d. R., Oliveira, P. D. d., Silva, W. S. V. d., Alves, G. H., y Dias, A. R. G. (2015b). Functional, thermal and rheological

- properties of oat beta-glucan modified by acetylation. *Food Chemistry*, 178, 243-250.
- Stajic, S., Zivkovic, D., Tomovic, V., Nedovic, V., Perunovic, M., Kovjanic, N., Levic, S., y Stanistic, N. (2014). The utilisation of grapeseed oil in improving the quality of dry fermented sausages. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 2356-2363.
- Steenblock, R. L., Sebranek, J. G., Olson, D. G., y Love, J. A. (2001). The effects of oat fiber on the properties of light bologna and fat-free frankfurters. *Journal of Food Science*, 66, 1409-1415.
- Steffolani, E., de la Hera, E., Pérez, G., y Gómez, M. (2014). Effect of chia (*Salvia hispanica* L) addition on the quality of gluten-free bread. *Journal of Food Quality*, 37, 309-317.
- Storsrud, S., Hulthen, L. R., y Lenner, R. A. (2003). Beneficial effects of oats in the gluten-free diet of adults with special reference to nutrient status, symptoms and subjective experiences. *British Journal of Nutrition*, 90, 101-107.
- Stortz, T. A., Zetzl, A. K., Barbut, S., Cattaruzza, A., y Marangoni, A. G. (2012). Edible oleogels in food products to help maximize health benefits and improve nutritional profiles. *Lipid Technology*, 24, 151-154.
- Stratulat, I., Britten, M., Salmieri, S., Fustier, P., St-Gelais, D., Champagne, C. P., y Lacroix, M. (2014). Enrichment of cheese with bioactive lipophilic compounds. *Journal of Functional Foods*, 6, 48-59.
- Szczepaniak, B., Piotrowska, E., Dolata, W., y Zawirska-Wojtasiak, R. (2005). Effect of partial fat substitution with dietary fibre on sensory properties of finely comminuted sausages. Part I. Wheat and oat fiber. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14/55, 309-314.
- Talukder, S., y Sharma, D. P. (2010). Development of dietary fiber rich chicken meat patties using wheat and oat bran. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 47, 224-229.
- Tang, C.-H., Chen, L., y Foegeding, E. A. (2011). Mechanical and water-holding properties and microstructures of soy protein isolate emulsion gels induced by CaCl<sub>2</sub>, Glucono-delta-lactone (GDL), and transglutaminase: influence of thermal treatments before and/or after emulsification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 4071-4077.

- Tang, C.-h., Yang, M., Liu, F., y Chen, Z. (2013). A novel process to efficiently form transglutaminase-set soy protein isolate-stabilized emulsion gels. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 15-21.
- Tavernier, I., Patel, A. R., Van der Meeren, P., y Dewettinck, K. (2017). Emulsion-templated liquid oil structuring with soy protein and soy protein:  $\kappa$ -carrageenan complexes. *Food Hydrocolloids*, 65, 107-120.
- Thakur, G., Naqvi, M. A., Rousseau, D., Pal, K., Mitra, A., y Basak, A. (2012). Gelatin-based emulsion gels for diffusion-controlled release applications. *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, 23, 645-661.
- Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., y Adhikari, B. (2015). Rheological and microstructural properties of the chia seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 991-999.
- Timilsena, Y. P., Wang, B., Adhikari, R., y Adhikari, B. (2017). Advances in microencapsulation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs)-rich plant oils using complex coacervation: A review. *Food Hydrocolloids*, 69, 369-381.
- Tokusoglu, O., y Ünal, M. K. (2003). Fat replacers in meat products. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 196-203.
- Toldrá, F. (2002). Dry-cured meat products. Ame, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Toldrá, F., y Reig, M. (2011). Innovations for healthier processed meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 517-522.
- Torgersen, H., y Toledo, R. T. (1977). Physical-properties of protein preparations related to their functional characteristics in comminuted meat systems. *Journal of Food Science*, 42, 1615-&.
- Triki, M., Herrero, A. M., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2013a). Effect of preformed konjac gels, with and without olive oil, on the technological attributes and storage stability of merguez sausage. *Meat Science*, 93, 351-360.
- Triki, M., Herrero, A. M., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2013b). Storage stability of low-fat sodium reduced fresh merguez sausage prepared with olive oil in konjac gel matrix. *Meat Science*, 94(4), 438-446.
- Triki, M., Herrero, A. M., Rodríguez-Salas, L., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2013c). Chilled storage characteristics of low-fat, n-3 PUFA-enriched dry fermented sausage reformulated with a healthy oil combination stabilized in a konjac matrix. *Food Control*, 31, 158-165.

- Tsugane, S. (2005). Salt, salted food intake, and risk of gastric cancer: Epidemiologic evidence. *Cancer Science*, 96, 1-6.
- Tucker, L. A., y Thomas, K. S. (2009). Increasing total fiber intake reduces risk of weight and fat gains in women. *Journal of Nutrition*, 139, 576-581.
- Ulu, H. (2006). Effects of carrageenan and guar gum on the cooking and textural properties of low fat meatballs. *Food Chemistry*, 95, 600-605.
- Ullah, R., Nadeem, M., Khalique, A., Imran, M., Mehmood, S., Javid, A., y Hussain, J. (2016). Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 53, 1750-1758.
- Urala, N., y Lahteenmaki, L. (2007). Consumers' changing attitudes towards functional foods. *Food Quality and Preference*, 18, 1-12.
- USDA. (2002). Nutrient Database for Standard Reference. United States Department of Agriculture. Release 15, Nutrient. Data Laboratory, Beltsville Research
- USDA. (2016). Full report (all nutrients) 12006, seeds, chia seeds, dried. National Nutrient Database for Standard Reference. United States Department of Agriculture. file:///C:/Users/71103719R/Downloads/foodsreport.pdf (último acceso, mayo 2017).
- Valdivia-López, M., y Tecante, A. (2015). Chia (*Salvia hispanica*): A review of native mexican seed and its nutritional and functional properties. *Advances in Food and Nutrition Research*, 75, 53-75
- Vansoest, P. J., Robertson, J. B., y Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- Vázquez-Ovando, J. A., Rosado-Rubio, J. G., Chel-Guerrero, L. A., y Betancur-Ancona, D. A. (2010). Dry processing of chia (*Salvia hispanica* L.) flour: chemical characterization of fiber and protein. *Cyta-Journal of Food*, 8, 117-127.
- Verdu, S., Vasquez, F., Ivorra, E., Sanchez, A. J., Barat, J. M., y Grau, R. (2015). Physicochemical effects of chia (*Salvia hispanica*) seed flour on each wheat bread-making process phase and product storage. *Journal of Cereal Science*, 65, 67-73.
- Viana, F. R., Bizzotto, C. S., Dias, D. R., Oliveira, A. L., y Silvestre, M. P. C. (2004). Bovine blood constituents as fat replacers in ham pate. *Food Technology and Biotechnology*, 42, 5-10.



- Viana, F. R., Silva, V. D. M., Delvivo, F. M., Bizzotto, C. S., y Silvestre, M. P. C. (2005). Quality of ham pate containing bovine globin and plasma as fat replacers. *Meat Science*, 70, 153-160.
- Viana, M. M., dos Santos Silva, V. L., y Trindade, M. A. (2014). Consumers' perception of beef burgers with different healthy attributes. *Lwt-Food Science and Technology*, 59, 1227-1232.
- Vital, A. C. P., Guerrero, A., Monteschio, J. d. O., Valero, M. V., Carvalho, C. B., de Abreu Filho, B. A., Madrona, G. S., y do Prado, I. N. (2016). Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. *Plos One*, 11, e0160535 (11 pp).
- Vural, H. (2003). Effect of replacing beef fat and tail fat with interesterified plant oil on quality characteristics of Turkish semi-dry fermented sausages. *European Food Research and Technology*, 217, 100-103.
- Vural, H., Javidipour, I., y Ozbas, O. O. (2004). Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fiber on the quality of frankfurters. *Meat Science*, 67, 65-72.
- Wagemakers, J. J. M. F., Prynne, C. J., Stephen, A. M., y Wadsworth, M. E. J. (2009). Consumption of red or processed meat does not predict risk factors for coronary heart disease; results from a cohort of British adults in 1989 and 1999. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, 303-311.
- Wagner, H. S., Howland, M., y Mann, T. (2015). Effects of Subtle and Explicit Health Messages on Food Choice. *Health Psychology*, 34, 79-82.
- Wang, X., He, Z., Zeng, M., Qin, F., Adhikari, B., y Chen, J. (2017). Effects of the size and content of protein aggregates on the rheological and structural properties of soy protein isolate emulsion gels induced by CaSO<sub>4</sub>. *Food Chemistry*, 221, 130-138.
- Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V., y Salminen, H. (2010). Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86, 196-213.
- Welch, R. (1995). The oat crop. Production and Utilization. Springer.
- WHO (1985). Energy and protein requirements. En Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), World Health Organization (WHO) and United Nations University (UNU) Expert Consultation
- WHO (2006). Safety evaluation of certain contaminants in food. En World Health Organization (WHO) Technical Report Series. Geneve (Switzerland).

- WHO (2007). Iodine Deficiency in Europe: A continuing public health problem. En World Health Organization (WHO) Technical Report Series. Geneve (Switzerland).
- WHO (2009). Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. En World Health Organization (WHO) Technical Report Series. Geneve (Switzerland).
- WHO (2011). Global status report on noncommunicable diseases 2010. En World Health Organization (WHO) Technical Report Series. Geneve (Switzerland).
- WHO (2012). Guideline: Sodium intake for adults and children En World Health Organization (WHO) Technical Report Series. Geneve (Switzerland).
- WHO/FAO (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. En Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), World Health Organization (WHO) and United Nations University (UNU) Expert Consultation.
- Wojciak, K. M., Karwowska, M., y Dolatowski, Z. J. (2014). Use of acid whey and mustard seed to replace nitrites during cooked sausage production. *Meat Science*, 96, 750-756.
- Wood, J. (2013). Reduction of saturated fat in finely comminuted and ground meat products by use of canola oil organogels and the effect on organoleptic qualities, texture and microstructure. University of Guelph, Ontario, Canadá. <https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/handle/10214/6677>
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., y Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.
- Wood, P. J., Weisz, J., y Blackwell, B. A. (1994). Structural studies of (1- 3),(1- 4)-beta-D-glucans by c(13)-nuclear magnetic-resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chemistry*, 71, 301-307.
- Woojoon, P., Ji-Han, K., Min-Gu, J., Su-Jung, Y., Go-Eun, H., y Chi-Ho, L. (2016). Physicochemical and textural properties of pork patties as affected by buckwheat and fermented buckwheat. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 658-666.

- Wooster, T. J., Day, L., Xu, M., Golding, M., Oiseth, S., Keogh, J., y Clifton, P. (2014). Impact of different biopolymer networks on the digestion of gastric structured emulsions. *Food Hydrocolloids*, 36, 102-114.
- Yang, H.-S., Choi, S.-G., Jeon, J.-T., Park, G.-B., y Joo, S.-T. (2007). Textural and sensory properties of low fat pork sausages with added hydrated oatmeal and tofu as texture-modifying agents. *Meat Science*, 75, 283-289.
- Yang, H. S., Kim, G. D., Choi, S. G., y Joo, S. T. (2010). Physical and Sensory Properties of Low Fat Sausage Amended with Hydrated Oatmeal and Various Meats. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 30(3), 365-372.
- Yang, M., Liu, F., y Tang, C.-H. (2013). Properties and microstructure of transglutaminase-set soy protein-stabilized emulsion gels. *Food Research International*, 52, 409-418.
- Yilmaz, E., y Ogutcu, M. (2014). Comparative analysis of olive oil organogels containing beeswax and sunflower wax with breakfast margarine. *Journal of Food Science*, 79, E1732-E1738.
- Yilmaz, I., y Daglioglu, O. (2003). The effect of replacing fat with oat bran on fatty acid composition and physicochemical properties of meatballs. *Meat Science*, 65, 819-823.
- Young, J. F., Therkildsen, M., Ekstrand, B., Che, B. N., Larsen, M. K., Oksbjerg, N., y Stagsted, J. (2013). Novel aspects of health promoting compounds in meat. *Meat Science*, 95, 904-911.
- Youssef, M. K., Barbut, S., y Smith, A. (2011). Effects of pre-emulsifying fat/oil on meat batter stability, texture and microstructure. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1216-1224.
- Yu, X. L., Li, X. B., Xu, X. L., y Zhou, G. H. (2008). Coating with sodium alginate and its effects on the functional properties and structure of frozen pork. *Journal of Muscle Foods*, 19, 333-351.
- Zettel, V., Kraemer, A., Hecker, F., y Hitzmann, B. (2015). Influence of gel from ground chia (*Salvia hispanica* L.) for wheat bread production. *European Food Research and Technology*, 240, 655-662.
- Zetzl, A. K., Marangoni, A. G., y Barbut, S. (2012). Mechanical properties of ethylcellulose oleogels and their potential for saturated fat reduction in frankfurters. *Food & Function*, 3, 327-337.

- Zhang, B., Guo, X., Zhu, K., Peng, W., y Zhou, H. (2015). Improvement of emulsifying properties of oat protein isolate-dextran conjugates by glycation. *Carbohydrate Polymers*, 127, 168-175.
- Zhou, Y., Lin, Y., Wu, X., Feng, C., Long, C., Xiong, F., Wang, N., Pan, D., y Chen, H. (2014). The high-level accumulation of n-3 polyunsaturated fatty acids in transgenic pigs harboring the n-3 fatty acid desaturase gene from *Caenorhabditis briggsae*. *Transgenic Research*, 23, 89-97.
- Zhu, Q., Wu, F., Saito, M., Tatsumi, E., y Yin, L. (2016). Effect of magnesium salt concentration in water-in-oil emulsions on the physical properties and microstructure of tofu. *Food Chemistry*, 201, 197-204.
- Zulim Botega, D. C., Marangoni, A. G., Smith, A. K., y Goff, H. D. (2013). Development of formulations and processes to incorporate wax oleogels in ice cream. *Journal of Food Science*, 78, C1845-1851.
- Zwer, P. (2004). Oats. En C. Wrigley, Corke, H. y Walker, C. (Ed.), *Encyclopedia of Grain Science*. Oxford: Elsevier.